

Kasuistik caniner Mastzelltumoren  
der Medizinischen Kleintierklinik der LMU  
zwischen 2006 und 2015

von Sebastian Ulrich Rotter

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

Kasuistik caniner Mastzelltumoren  
der Medizinischen Kleintierklinik der LMU  
zwischen 2006 und 2015

von Sebastian Ulrich Rotter

aus Wiesbaden

München 2018

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:  
Univ.-Prof. Dr. Johannes Hirschberger

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Johannes Hirschberger

**Korreferent/en:** Priv.-Doz. Dr. Maik Dahlhoff

**Tag der Promotion:** 10.02.2018

Meiner Familie und Tanja

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>I. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>II. LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>2</b>
<b>1. Biologie und Funktion von Mastzellen .....</b>	<b>2</b>
<b>2. Mastzelltumoren des Hundes .....</b>	<b>2</b>
2.1. Vorkommen (Alter, Geschlecht, Rassen).....	2
2.2. Klinisches Bild .....	3
2.2.1. Aussehen .....	3
2.2.2. Lokalisation.....	4
2.2.3. Multiple MCT .....	5
2.2.4. Paraneoplastisches Syndrom .....	5
2.3. Diagnose.....	6
2.3.1. Zytologie (Feinnadelaspiration) .....	6
2.3.2. Histologie (Biopsie) .....	7
2.4. Staging.....	8
2.5. Prognose .....	10
2.5.1. Tumorgrad.....	11
2.5.2. Lokalisation.....	13
2.5.3. Metastasen.....	14
2.5.4. Proliferationsmarker (MI, Ki-67, AgNOR, PCNA).....	14
2.5.5. c-KIT-Expression und KIT-Mutation .....	23
2.5.6. Kernmorphologie .....	26
2.5.7. Intratumorale Mikrogefäßdichte (intratumor microvessel density) .....	26
2.5.8. Fibroblast Activating Protein (FAP) .....	26
2.6. Behandlung .....	26
2.6.1. Chirurgie .....	27
2.6.2. Bestrahlung .....	29
2.6.3. Chemotherapie .....	34
2.6.4. Tyrosinkinaseinhibitoren.....	40
2.6.5. Andere Therapieoptionen.....	43
2.6.6. Unterstützende Therapie .....	45
2.6.7. Ausblick in die Zukunft .....	46

<b>III. MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>48</b>
<b>1. Patientenaufkommen an der MTK.....</b>	<b>48</b>
1.1. Einschlusskriterien .....	49
1.2. Ausschlusskriterien .....	49
1.3. Patientendaten .....	50
1.4. OP-Methoden .....	52
1.5. RTH-Protokolle.....	53
1.6. Chemotherapie-Protokolle und Tyrosinkinase-Inhibitoren.....	53
1.7. Nachkontrolle und Re-Staging .....	54
1.8. Statistik.....	55
<b>IV. ERGEBNISSE.....</b>	<b>56</b>
<b>1. Studienpopulation .....</b>	<b>56</b>
1.1. Mittleres Alter und Körpergewicht .....	56
1.2. Geschlecht .....	57
1.3. Rasseprädisposition.....	57
1.4. Tumorlokalisation .....	59
1.5. Paraneoplastisches Syndrom.....	59
1.6. Histologischer Tumorgrad .....	60
1.7. Rezidive in der Krankengeschichte.....	61
1.8. Staging und Metastasen.....	62
1.9. Blutbildveränderungen .....	63
1.10. Prognostische Faktoren (c-KIT, Ki-67, MI) .....	67
1.11. Behandlungsgruppen.....	69
1.12. OP-Ränder.....	69
1.13. Chemotherapie-Protokolle .....	70
1.14. RTH-Protokolle.....	70
1.15. Nebenwirkungen Chemotherapie.....	71
1.16. Nebenwirkungen RTH .....	73
1.17. Erster Therapieeffekt (Response).....	74
1.18. Langzeit-Therapieeffekt (Outcome).....	75
1.19. Todesursache.....	75
1.20. Mediane Überlebenszeit.....	78
1.21. Disease free interval (DFI).....	83
1.22. Jahresgrenze .....	85

---

<b>V. DISKUSSION.....</b>	<b>88</b>
<b>VI. ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>102</b>
<b>VII. SUMMARY.....</b>	<b>103</b>
<b>VIII. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>104</b>
<b>IX. ANHANG .....</b>	<b>128</b>
<b>X. DANKSAGUNG .....</b>	<b>130</b>



**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

AGNORs	Nukleolus-organisierte Regionen, die mit Silberfärbung in Zellpräparaten sichtbar sind
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
BCG	Bacillus Calmette Guerin
CR	Complete Remission
DFI	Disease free interval
ECT	Elektrochemotherapie
FAP	Fibroblasten-aktiviertes Protein
FGFR	Fibroblast growth factor receptor
FNA	Feinnadelaspiration
Gy	Gray
HCG	Human chorionic gonadotropin
HE	Hämatoxylin-Eosin
HPF	High Power Field
HSP	Hitzeschockprotein
ITD	Internal tandem duplications

i.v.	intravenös
KM	Körpermasse
KOF	Körperoberfläche
LK	Lymphknoten
MCT	Mastzelltumoren
MI	Mitotischer Index
MST	Mediane Überlebenszeit
MTK	Medizinische Kleintierklinik der LMU München
NW	Nebenwirkung
ORR	Objective response rate
OS	Overall survival
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
PD	Progressive Disease
PDGFR	Platelet derived growth factor receptor
PFST	Progression free survival
p.o.	per os
PR	Partial Remission
RTH	Strahlentherapie
SD	Stable Disease
TAF	Tumor-assoziierte Fibroblasten

TKI	Tyrosinkinase- inhibitor
TRAIL	TNF-related apoptosis-inducing ligand
VCOG	Veterinary comparative oncology group
VEGFR	Vascular endothelial growth factor receptor
VRTOG	Veterinary Radiation Therapy Oncology Group
WBC	White blood cells

## I. EINLEITUNG

Mastzelltumoren kommen bei Hunden häufig vor und befallen vor allem die Haut (MACY, 1985) (LONDON & SEGUIN, 2003) (MISDORP, 2004). Durch eine klinische Untersuchung kann diese Erkrankung nicht von anderen Neoplasien unterschieden werden. Bei der caninen Form reicht das biologische Verhalten von benignen bis hin zu hoch malignen Ausprägungsformen.

Mit jeder Studie steigt zwar das Wissen um diese Tumorform (RIVA et al., 2005) (WELLE et al., 2008) (MILLER et al., 2014) (SLEDGE et al., 2016) (SMITH et al., 2017), jedoch ist es bislang kaum möglich, den Verlauf der Erkrankung korrekt vorherzusagen. Regelmäßige retrospektive Auswertungen des Patientengutes können daher sehr wertvoll sein, um die eigenen Erfahrungen mit jenen aus der Literatur zu vergleichen.

Die Diagnose Mastzelltumor kann schnell durch eine Feinnadelaspiration gestellt werden, jedoch ist der histologische Tumorgrad einer der wichtigsten Faktoren für Vorhersage des biologischen Verhaltens und den letztendlichen Ausgang der Erkrankung (BOSTOCK, 1973) (PATNAIK et al., 1984) (MURPHY et al., 2004) (KIUPEL et al., 2011). Weitere Faktoren, für welche ein Einfluss auf die Prognose nachgewiesen ist, sind die Einteilung nach den Kriterien der WHO, Tumorlokalisation und -größe, sowie Zellproliferationsmarker und Veränderungen des Tyrosinkinaserzeptors c-KIT (BOSTOCK, 1973) (KRAVIS et al., 1996) (ABADIE et al., 1999) (SCASE et al., 2006) (SEGUIN et al., 2006) (ROMANSIK et al., 2007) (WEBSTER et al., 2007) (HUME et al., 2011).

Eine Rasseprädisposition für Mastzelltumoren wurde schon in verschiedenen Studien gezeigt. Bei den brachycephalen Rassen scheint das Risiko für ein Auftreten höher zu sein, der Verlauf der Erkrankung ist jedoch weniger maligne. Labrador Retriever und Golden Retriever hingegen entwickeln aggressivere Tumorformen (MURPHY et al., 2006) (WELLE et al., 2008).

In dieser Arbeit soll das Patientengut der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München mit den Angaben in der Literatur verglichen werden. Dabei wurden die Diagnoseart, Staging, Behandlung, Nebenwirkungen, Ansprechen auf die Therapie, Überlebenszeiten, Tumorlokalisation, Rasse- und Geschlechtsverteilung ausgewertet.

## **II. LITERATURÜBERSICHT**

### **1. Biologie und Funktion von Mastzellen**

Mastzellen wurden zum ersten Mal von Paul Ehrlich entdeckt und beschrieben (SIEFERT & STOCKL, 1983) (GHABLY et al., 2015). Sie sind in vielen verschiedenen Gewebearten des Körpers vorhanden, vor allem im Übergangsbereich zwischen dem Tier und seiner Umgebung (DA SILVA et al., 2014).

Diese Art von Zellen entwickelt sich aus Vorläuferzellen im Knochenmark, aus dem sie in das periphere Gewebe wandern. Hier entwickeln sie sich unter dem Einfluss lokaler Zytokine zu reifen Mastzellen. Die Vorläuferzellen sind morphologisch noch nicht als Mastzellen zu erkennen. Erst nach Infiltration in das Bindegewebe oder in die Schleimhaut lassen sie sich morphologisch identifizieren (HATANAKA et al., 1979; KITAMURA & FUJITA, 1989).

Heute gelten Mastzellen als multifunktionale Immunzellen, die an einer Reihe von physiologischen und pathologischen Vorgängen im Körper beteiligt sind (DA SILVA et al., 2014). Sie enthalten eine Vielzahl an zytoplasmatischen Granula, welche eine Reihe von bioaktiven Substanzen, wie z. B. Histamin und Heparin, beherbergen. Dadurch sind Mastzellen unter anderem an allergischen Reaktionen und Entzündungsprozessen beteiligt. Mit Toluidinblau lassen sich die Granula in Mastzellen metachromatisch anfärben (CASTELLS, 2006).

### **2. Mastzelltumoren des Hundes**

#### **2.1. Vorkommen (Alter, Geschlecht, Rassen)**

Mastzelltumoren (MCT) kommen beim Hund relativ häufig vor, 16 % bis 21 % aller Hauttumoren des Hundes sind MCT (BRODEY, 1970) (BOSTOCK, 1986). Somit stellen sie die größte Gruppe der malignen Hautneoplasien bei dieser Tierart dar (VILLAMIL et al., 2011).

Von dieser Tumorart sind vor allem ältere Patienten betroffen, sie kann aber auch bei Hunden auftreten, welche jünger als ein Jahr sind (BLACKWOOD et al., 2012). Das Durchschnittsalter liegt zwischen 7 und 11 Jahren (PATNAIK et al., 1984) (SIMOES et al., 1994) (WELLE et al., 2008).

Obwohl Mischlinge am häufigsten von dieser Tumorerkrankung betroffen sind, besteht für verschiedene Hunderassen eine Prädisposition: Boxer, Boston Terrier, Schnauzer, Shar Peis, Labrador und Golden Retriever, Cocker Spaniel, Schnauzer, Beagle, Staffordshire Terrier, Rhodesian Ridgebacks, Weimaraner und Möpse (PETERS, 1969) (PATNAIK et al., 1984) (BOSTOCK, 1986) (WHITE et al., 2011). Bei Boxern und Möpsen werden MCT histologisch meist als wenig bis mittelgradig aggressiv und mit guter Prognose eingeschätzt, wohingegen MCT bei v. a. jungen Shar Peis sehr schlecht differenziert sind und als hochgradig aggressiv beschrieben werden (BOSTOCK, 1973) (BOSTOCK, 1986) (O'KEEFE, 1990) (MILLER, 1995) (LONDON & SEGUIN, 2003) (MCNIEL et al., 2006) (MURPHY et al., 2006).

Eine Geschlechtsprädisposition bei dieser Tumorart konnte bisher noch nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden. Eine Studie von Scase et al. aus 2006 beschreibt jedoch kürzere Überlebenszeiten bei männlichen Tieren, die nur mit einer OP therapiert wurden (SCASE et al., 2006).

Die Ätiologie von MCT ist bis zum heutigen Stand ungeklärt. Das vermehrte Auftreten dieser Tumorform bei bestimmten Rassen lässt eine genetische Ursache vermuten (PETERS, 1969), was bis heute allerdings weder identifiziert noch durch Studien bestätigt ist.

## **2.2. Klinisches Bild**

### **2.2.1. Aussehen**

MCT können sich in ihrem Aussehen sehr variabel darstellen. Von einem reizlosen, weichen Hautknoten bis hin zu infiltrativen und ulzerierenden Formen kann alles als MCT in Frage kommen. Eine palpatorische Abgrenzung zu einem Lipom ist nicht möglich.

Die klinische Erscheinung der Umfangsvermehrung korreliert jedoch oft mit der histologischen Differenzierung des Tumors (BOSTOCK, 1973). So erscheinen gut-differenzierte Tumoren oft als solitäre, im Durchmesser 1-4 cm große und langsam wachsende Neoplasien, welche meist schon länger als 6 Monate bestehen. Schlecht differenzierte Tumoren dieser Art sind hingegen schnell wachsende, große und ulzerierende Gebilde. Die Umgebung kann ödematös geschwollen und entzündet sein. Bei Tumoren, die mittelgradig differenziert sind,

können alle Zwischenformen auftreten (LONDON & THAMM, 2013).

### **2.2.2. Lokalisation**

Eine örtliche Eingrenzung von MCT ist nicht möglich, da sie überall am Körper vorkommen können. Haut und Unterhautgewebe sind die häufigsten Orte, an denen ein MCT diagnostiziert wird, und dabei treten ca. 50 % am Rumpf und im perinealen Bereich auf, 40 % an den Gliedmaßen und ca. 10 % im Hals- und Nackenbereich (HOTTENDORF & NIELSEN, 1969) (LONDON & THAMM, 2013). In seltenen Fällen finden sich MCT im Bereich der Konjunktiven, der Speicheldrüse, im Nasopharynx, der Maulhöhle, des Rückenmarks und des Ureters (BOSTOCK, 1973) (PATNAIK et al., 1982) (IWATA et al., 2000) (MOORE et al., 2002) (STEFFEY et al., 2004). MCT im Bereich des Präputiums oder des Skrotums hatten in verschiedenen Studien eine schlechtere Prognose (CAHALANE et al., 2004) (SFILIGOI et al., 2005). Im Falle von MCT der Schnauze konnten bei 50 % bis 60 % der Patienten regionale Lymphknotenmetastasen nachgewiesen werden (GIEGER et al., 2003) (HILLMAN et al., 2010). Allerdings lag in der Studie von Hillman et al. die mediane Überlebenszeit (MST) bei Hunden mit Metastasen bei 14 Monaten und ist damit nicht als schlecht zu bewerten. Des Weiteren konnten Fife et al. in ihrer Studie bei MCT der Konjunktiven beobachten, dass kein erkrankter Hund an seinem Tumor verstorben ist (FIFE et al., 2011).

Auch viszerale Formen der Erkrankung wurden nachgewiesen. Diese werden als disseminierter MCT oder systemische Mastozytose bezeichnet (O'KEEFE et al., 1987) (TAKAHASHI et al., 2000). Für gewöhnlich geht dabei eine aggressive Primärläsion der systemischen Ausbreitung voraus. Viszerale MCT des Gastrointestinaltraktes, der Milz, der Leber oder des Knochenmarks haben im Allgemeinen eine äußerst schlechte Prognose (O'KEEFE et al., 1987) (TAKAHASHI et al., 2000).

Subkutane MCT scheinen einer Studie von Thompson et al. zufolge mit längeren Überlebenszeiten und geringeren Rezidiv- und Metastasierungsraten generell eine bessere Prognose zu zeigen. In dieser Studie mit 306 Hunden mit subkutanen MCT kam es bei nur 4 % zu einer Metastasierung und nur 8 % der Tiere hatte ein lokales Rezidiv (THOMPSON et al., 2011).

### **2.2.3. Multiple MCT**

Die Mehrheit der Patienten wird mit einem solitären Tumor beim Tierarzt vorstellig. Bei 11 % bis 14 % der Hunde werden jedoch multiple UVs festgestellt (PELT et al., 1986) (MULLINS et al., 2006), die bereits bei der ersten Untersuchung vorhanden sind oder auch erst im Verlauf der Erkrankung auftreten können. Inwieweit diese Art der Ausprägung die Prognose beeinflusst, wird kontrovers diskutiert. So finden sich Studien, die keine schlechtere Prognose für multiple MCT nachweisen konnten (THAMM et al., 1999) (THAMM et al., 2006) (MURPHY et al., 2006) (MULLINS et al., 2006). Es gibt aber auch Autoren, die einen schlechteren Ausgang prognostizieren (KIUPEL et al., 2005) (PREZIOSI et al., 2007). Bis heute ist unklar, ob es sich hierbei um eine untypische Form der Metastasierung handelt oder um multiple Tumoren, die unabhängig voneinander entstehen (LONDON & THAMM, 2013).

### **2.2.4. Paraneoplastisches Syndrom**

Durch Freisetzung der in den Mastzellen enthaltenen Granula kann es durch die Freisetzung von Histamin, Heparin und anderen vasoaktiven Substanzen zu einer Reihe von Symptomen kommen, die das Allgemeinbefinden des Patienten negativ beeinflussen. Mögliche auslösende Faktoren dafür kann die manuelle Manipulation bei der klinischen Untersuchung oder eine Feinnadelaspiration sein (AUBELE et al., 1994). Lokal führt dies zu Blutgerinnungsstörungen und einem starken Juckreiz. Es kann dabei zur Ausbildung eines sog. Darier's sign kommen. Damit wird eine lokale Rötung mit Quaddelbildung im Bereich des Tumors bezeichnet. Ebenso kann durch die Freisetzung der Granula die Tumorgroße zu- oder abnehmen.

Als systemisches paraneoplastisches Syndrom sind v. a. gastrointestinale Ulzerationen zu nennen. Diese können zu Erbrechen, teilweise blutigem Erbrechen, Anorexie, Meläna, Durchfall und Bauchschmerzen führen (LONDON & THAMM, 2013). Bei Sektionen konnten bei ca. 80 % der Hunde mit MCT Ulzera in der Magen- oder Duodenalschleimhaut festgestellt werden, die bis hin zu einer Perforation der Magenwand führten (HOWARD et al., 1969) (FOX et al., 1990).

## **2.3. Diagnose**

### **2.3.1. Zytologie (Feinnadelaspiration)**

Wie oben erwähnt können MCT durch eine reine palpatorische Untersuchung nicht von Lipomen oder anderen Tumoren unterschieden werden und können jede erdenkliche Form annehmen. Lediglich eine wechselnde Zu- oder Abnahme der Umfangsvermehrung kann einen Hinweis auf das Vorliegen eines MCT liefern.

Ein erster diagnostischer Schritt ist die Durchführung einer Feinnadelaspiration (FNA), die in 92 % bis 96 % der Fälle schon die Diagnose MCT liefern kann (BAKER-GABB et al., 2003).

Normalerweise sind die zytologischen Proben sehr zellreich und die Mastzellen zeigen sich als kleine bis mittelgroße Rundzellen mit einer fein- bis grobkörnigen Granula (BOSTOCK, 1986). Bei einer Färbung nach Romanowsky stellen sich diese Granula lilafarben dar. Bei einem geringen Anteil der MCTs färben sich die Granula nicht an und die Tumorzellen können leicht mit anderen Rundzellen verwechselt werden, teilweise auch als „Spiegelei“ / fried-egg appearance beschrieben (LONDON & THAMM, 2013). In diesen Fällen ist es möglich, die Granula mit einer Färbung nach Wright-Giemsa oder mit Toluidinblau sichtbar zu machen.

Berichte über eine mangelnde Anfärbung der Granula mit der oft verwendeten Diff-Quick-Färbung bei bis zu 15 % der MCT ließen sich in der Praxis nicht bestätigen (DENICOLA, 2014).

Zytologisch lassen sich MCT des Hundes nach Grad der Granulation und den Kernatypien in drei Stufen unterscheiden. Als Grad I (gut differenziert) bezeichnet man Mastzellen, wenn sie unterschiedlich stark angefärbte Granula mit kleinen Zellkernen von derselben Größe aufweisen. Bei Grad II (mittelmäßig differenziert) zeichnen sich die Mastzellen durch einen geringeren Inhalt an Granula und in Form und Größe unterschiedliche Zellkerne aus. Eine Einstufung in den Grad III (schlecht differenziert) erhalten Zellen, die wenig bis keine zytoplasmatische Granula aufweisen und deren Zellkerne deutliche Kernatypien (Anisokaryose, multiple und prominente Nukleoli, grobe Chromatinstruktur) aufweisen. In dieser letzten Stufe kommt es auch zum Auftreten von Mitosen und großen zweikernigen Zellen. Im Hintergrund ist meist Granula aus rupturierten Zellen sichtbar (RASKIN, 2015). In schlecht differenzierten MCT kann man



versuchen, die Granula mit Toluidinblau anzufärben (DUNN & GERBER, 2007).

Hergt et al. haben 2016 bei insgesamt 141 zytologischen Proben aus MCT versucht, den Tumorgrad anhand der FNA zu bestimmen. Die Autoren konnten dabei eine Übereinstimmung in 133 Fällen zeigen, jedoch wurden 5 histologische high-grade-Tumoren in der Zytologie als low-grade-Neoplasie eingestuft (HERGT et al., 2016).

Auch Camus et al. haben im gleichen Jahr an einem zytologischen Gradingssystem gearbeitet. Es wurden die gleichen Kriterien wie in einem 2-stufigen histologischen System angewendet. Hunde mit einem histologisch und zytologisch high-grade MCT hatten eine 39- bzw. 25-fach höhere Wahrscheinlichkeit, an ihrem Tumor innerhalb von zwei Jahren zu versterben, als Hunde mit einem low-grade-Tumor. Das zytologische Gradingssystem hatte in dieser Studie eine Sensitivität von 88 % und eine Spezifität von 94 % (CAMUS et al., 2016).

In Studien mit immunhistochemischen Färbemethoden wurde versucht, agranuläre MCT von anderen anaplastischen Rundzelltumoren zu unterscheiden, und es konnte gezeigt werden, dass MCT Vimentin-positiv sind und auch positiv auf Tryptase und CD 117 ansprechen (RABANAL et al., 1989) (SANDUSKY et al., 1987) (KIUPEL et al., 2004) (MEDERLE et al., 2010).

Für die Diagnose MCT reicht die FNA aus. Um einen genauen Tumorgrad zu erhalten, ist bis heute aber weiterhin eine histopathologische Untersuchung zwingend erforderlich, obwohl aktuell Fortschritte bei der zytologischen Bewertung gemacht werden.

### **2.3.2. Histologie (Biopsie)**

Für eine exakte Aussage über den Malignitätsgrad eines MCT muss eine histologische Probe der jeweiligen Umfangsvermehrung untersucht werden.

Zum einen kann dafür eine inzisionale Biopsie des Tumors entnommen werden. Hierbei wird nur ein Teilstück entfernt und zur Beurteilung eingeschickt. So kann die Operation zur kompletten Entfernung anhand des definitiven Tumorgrades geplant werden. Zu beachten ist hierbei, dass diese Art Biopsie nicht aus Tumorearealen genommen werden sollte, die makroskopisch entzündet oder gar nekrotisch verändert erscheinen (BLACKWOOD et al., 2012).

Eine Alternativmethode besteht darin, den kompletten Tumor zu entfernen und als sog. exzisionale Biopsie in ein Labor zu senden. Diese Methode bietet sich vor allem an Stellen an, bei denen eine großflächige operative Entfernung problemlos möglich und eine genaue Planung der Chirurgie nicht nötig ist. Generell ist zu sagen, dass die erste Operation immer die größte Chance auf Heilung verspricht (BLACKWOOD et al., 2012).

#### **2.4. Staging**

Nach der Diagnose MCT ist ein ausführliches Staging erforderlich, um die genaue Ausbreitung der Erkrankung abschätzen zu können. Das Staging besteht aus einem Blutbild, einer Blutchemie, FNA der regionären Lymphknoten (LK), einem Ultraschall des Abdomens mit einer FNA von Leber und Milz, einem Thoraxröntgen und einer Knochenmarkaspiration (LONDON & THAMM, 2013).

Obwohl die Metastasierungswahrscheinlichkeit meist sehr gering ist, so ist es dennoch angebracht, vor sehr langwierigen oder sehr kostenintensiven Therapien ein solches Staging durchzuführen.

Im Falle eines MCT an einer Stelle, die sich gut für eine großzügige chirurgische Entfernung eignet und an welcher keine negativ prognostischen Faktoren beim Patienten festgestellt wurden, reicht vorerst ein minimales Staging und eine FNA des regionären LK. Eine histologische Untersuchung des Tumors bleibt allerdings unerlässlich. Bei einem Tumor an einer Stelle, die keine weiträumige Entfernung zulässt oder bei negativ prognostischen Faktoren, empfehlen sich eine inzisionale Biopsie zur Tumorgradbestimmung und im weiteren Verlauf eine FNA des lokalen LK sowie ein Ultraschall des Abdomens.

Bei der FNA des regionären LK kommen bei bis zu 24 % der Patienten morphologisch normale Mastzellen vor (BOOKBINDER et al., 1992). Dadurch kann es oftmals schwierig sein, normale von neoplastischen Mastzellen in einer FNA des LK zu differenzieren. Als generelle Regel gilt hier, von einem metastatischen Geschehen auszugehen, wenn Mastzellen in kleinen Gruppen zusammenliegen und nicht einzeln liegen (BLACKWOOD et al., 2012). Bei einer deutlich erhöhten Anzahl an Mastzellen oder bei einer Entartung der Zellen ist die Diagnose „Metastase“ hingegen eher zu stellen

Bei Patienten mit Lymphknotenmetastasen ist allerdings auf jeden Fall ein vollständiges Staging erforderlich.

Im Ultraschall erscheinen die Veränderungen bei Hund und Katze meist als wenig spezifisch für eine tumoröse Entartung (SATO & SOLANO, 2004). Eine Aspiration von Leber und Milz sollte dabei jedoch immer erfolgen, unabhängig vom Grad der sonographisch festgestellten Veränderungen. Das Vorhandensein von negativ prognostischen Faktoren reicht nämlich aus die zytologische Untersuchung zu rechtfertigen, auch wenn die Organe im Ultraschall unverändert erscheinen (BOOK et al., 2011). In einer Studie von Stefanello et al. aus dem Jahr 2009 hatten Hunde mit einem positiven Befund bei der FNA von Leber und Milz (34 Tage ) deutlich kürzere Überlebenszeiten als Tiere mit negativem Befund (733 Tage) (STEFANELLO et al., 2009).

Bei Röntgenaufnahmen des Thorax zeigen sich nur in sehr seltenen Fällen Metastasen eines MCT. Vor der Durchführung teurer und langwieriger Therapien sind sie dennoch gerechtfertigt, schon um weitere Erkrankungen auszuschließen.

Für die genaue Planung einer operativen Entfernung ist es nötig, die komplette Ausdehnung des Tumors genau erfassen zu können. Neben Palpation und lokalen Röntgenaufnahmen haben Hahn et al. 1990 den Einsatz von Ultraschall und Computertomographie bei subkutanen Tumoren des Hundes untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass in 19 % der Mastzelltumorfälle die Tumorränder ohne Ultraschall oder CT unterschätzt wurden (HAHN et al., 1990). Je nach Lokalisation sind damit diese beiden Hilfsmittel eine zusätzliche Option für die Planung einer Operation.

Eine Untersuchung des buffy coat wird bei MCT des Hundes sehr kontrovers diskutiert (MCMANUS, 1999) und ihr wird nur eine begrenzte Aussagekraft zugesprochen. Von einer peripheren Mastozytose konnte in verschiedenen Studien v. a. bei akuten, entzündlichen Hauterkrankungen und bei anderen Tumoren berichtet werden (STOCKHAM et al., 1986) (CAYATTE et al., 1995) (MCMANUS, 1999). Aktuell wird diese Untersuchung routinemäßig nicht mehr durchgeführt.

Für die Knochenmarksaspiration zum Nachweis einer systemischen Ausbreitung gilt ähnliches. In einer Studie von Endicott et al. mit 157 Hunden konnte nur bei 2,8 % der Patienten eine Infiltration des Knochenmarks gezeigt werden (ENDICOTT et al., 2007). Zudem ist eine Beteiligung des Knochenmarks nur bei der systemischen Form der Krankheit vorhanden und für diese Sonderform lassen

sich schneller und einfacher Beweise in Leber oder Milz finden (O'KEEFE et al., 1987).

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) teilt MCT nach einem klinischen System in vier Stufen ein (siehe Tab. 1). Verschiedene Studien haben gezeigt, dass diese Einteilung einen Einfluss auf das Outcome der Erkrankung haben kann (BOSTOCK, 1973) (TURREL et al., 1988) (GERRITSEN et al., 1998) (KRICK et al., 2009).

**Tabelle 1: Einteilung der WHO**

Stadium	Beschreibung
0	solitärer Tumor der Haut, inkomplett entfernt, ohne Beteiligung des regionären Lymphknotens 1. mit systemischen Symptomen 2. ohne systemische Symptome
I	solitärer Tumor der Haut, ohne Beteiligung des regionären Lymphknotens 1. mit systemischen Symptomen 2. ohne systemische Symptome
II	solitärer Tumor der Haut, mit Lymphknotenmetastasen 1. mit systemischen Symptomen 2. ohne Systemische Symptome
III	multiple Mastzelltumoren der Haut oder infiltrative solitäre Tumoren mit oder ohne Lymphknotenmetastasen 1. mit systemischen Symptomen 2. ohne systemische Symptome
IV	jeder Tumor mit Fernmetastasen oder Tumorrezidiv mit Metastasen

Bis zum heutigen Zeitpunkt gibt es keine Klarheit über die Einteilung von multiplen MCT und die pauschale Einteilung dieser Tumorform anhand der Kriterien der WHO. Es findet sich eine ganze Reihe an Studien, die keinerlei Unterschied im Outcome zwischen multiplen Tumoren und Einzeltumoren feststellen konnten (MULLINS et al., 2006) (MURPHY et al., 2006) (THAMM et al., 2006). Genauso gibt es aber auch Berichte über ein schlechteres Outcome bei Hunden mit mehreren, gleichzeitig auftretenden MCT (KIUPEL et al., 2005) (PREZIOSI et al., 2007). In Zukunft könnte dies zu einem Umdenken bei der Einteilung multipler MCT führen.

## **2.5. Prognose**

Das Verhalten von MCT beim Hund ist sehr unterschiedlich und sehr schwierig vorherzusagen. Über die Zeit wurde eine Vielzahl von unterschiedlichen prognostischen Faktoren entwickelt, die das biologische Verhalten und den klinischen Ausgang von caninen MCT besser vorhersagbar machen sollen. Jedoch gibt es bisweilen nicht den einen zuverlässigen prognostischen Faktor, sondern es

sollten stets mehrere Punkte gemeinsam bewertet werden.

### 2.5.1. Tumorgrad

Einer der wichtigsten und verlässlichsten prognostischen Marker bei MCT des Hundes ist der histologische Tumorgrad (BOSTOCK, 1973) (PATNAIK et al., 1984) (SIMOES et al., 1994) (MURPHY et al., 2004) (KIUPEL et al., 2011). Unabhängig von der Art der histologischen Probe werden MCT aktuell nach dem System von Patnaik et al. aus dem Jahr 1984 (siehe Tab. 3) oder nach dem System von Kiupel et al. aus 2011 eingeteilt. Das erste System zur Einstufung von MCT wurde 1973 von Bostock et al. eingeführt (siehe Tab. 2) (BOSTOCK, 1973).

Tabelle 2: Tumorgrad nach Bostock

Tumorgrad	Bostock	mikroskopische Beschreibung
undifferenziert,	Grad I	zellreich, unscharfe Zellgrenzen, unterschiedliche Zellgrößen, häufig Mitosen, abnormale Form und Größe der Zellkerne, wenig und schwach anfärbenden Granula
mittelgradig differenziert	Grad II	Zellen liegen dicht aneinander, unscharfe Zellgrenzen, vereinzelt Mitosen, Menge und Anfärbung der Granula reduziert
gut differenziert	Grad III	klare Zellgrenzen, gleichmäßige Zellkerne (sphärisch bis ovoid), kaum Mitosen, grobkörnige Granula, starke Anfärbung

Tabelle 3: Tumorgrad nach Patnaik

Tumorgrad	Patnaik	mikroskopische Beschreibung
gut differenziert	Grad I	klare Zellgrenzen, gleichmäßige Zellkerne (sphärisch bis ovoid), kaum Mitosen, grobkörnige Granula, starke Anfärbung
mittelgradig differenziert	Grad II	Zellen liegen dicht aneinander, unscharfe Zellgrenzen, vereinzelt Mitosen, Menge und Anfärbung der Granula reduziert
undifferenziert	Grad III	zellreich, unscharfe Zellgrenzen, unterschiedliche Zellgrößen, häufig Mitosen, abnormale Form und Größe der Zellkerne, wenig und schwach anfärbenden Granula

Am weitesten ist bisher das System von Patnaik et al. verbreitet. Hierbei werden MCT anhand von histologischen Kriterien in insgesamt drei Stufen eingeteilt.

Dabei werden zur Einteilung folgende Punkte berücksichtigt:

- Lokalisation der Tumoren
- Zellmorphologie
- Kernmorphologie
- Zellulärität
- Stromareaktionen
- Anzahl von Mitosen pro high-power-field (HPF)
- Auftreten von Nekrose und Ödemen

(PATNAIK et al., 1984).

Eine Einteilung erfolgt daraufhin in:

- Grad I (gut differenziert)
- Grad II (mittelgradig differenziert)
- Grad III (schlecht differenziert)

Gut differenzierte Tumoren vom Grad I haben eine sehr gute Prognose und sind meist bereits durch einen chirurgischen Eingriff geheilt. Schlecht differenzierte Tumoren (Grad III) sind hingegen lokal sehr invasiv wachsend und es besteht ein hohes Metastasierungsrisiko (SABATTINI et al., 2015). Daher wird hier immer eine adjuvante Therapie empfohlen. Mittelgradig differenzierte MCT nach dem System von Patnaik et al. sind leider nicht so leicht prognostisch einzuschätzen. Die Mehrheit der Tumoren von Grad II kann durch eine lokale Therapie geheilt werden und nur 5 % – 22 % metastasieren (BLACKWOOD et al., 2012). Neben der unsicheren Vorhersage für das Verhalten von Grad II-Tumoren im Patnaik-System ist die Einteilung in die verschiedenen Gradstufen recht fehleranfällig (KIUPEL et al., 2011). Eine Studie von Northrup et al. aus 2005 ergab unter 10 Pathologen nur eine Übereinstimmung von 62,1 % bei der Einstufung von Mastzelltumorproben nach dem System von Patnaik (NORTHROP et al., 2005).

Um die Trefferquote der Pathologen zu verbessern und auch um eine bessere Prognose über die mittelgradig differenzierten Tumoren abgeben zu können, wurde 2011 durch Kiupel et al. ein 2-stufiges System zur histologischen Einteilung von MCT eingeführt (KIUPEL et al., 2011), das eine bessere Vorhersage über das biologische Verhalten dieser Tumoren ermöglichen soll. Die beiden Stufen werden als high- oder low-grade MCT bezeichnet.

Die Kriterien für die Einstufung eines MCT als high-grade nach Kiupel sind:

- mindestens 7 Mitosen in 10 high power fields (HPFs)
- mindestens 3 mehrkernige Zellen in 10 HPFs
- mindestens 3 bizarre Zellkerne in 10 HPFs
- Karyomegalie

(KIUPEL et al., 2011)

Um die Anforderungen zu überprüfen, wird jeweils der Bereich mit der höchsten mitotischen Aktivität oder mit dem höchsten Grad an Anisokaryose abgesucht. Alle anderen MCT werden nach diesem System als low-grade MCT eingestuft.

In der Originalstudie von Kiupel et al. konnte mit diesem 2-stufigen System eine Übereinstimmung der Pathologen von 96,8 % erreicht werden. High-grade-Tumoren haben für den Patienten ein deutlich erhöhtes Risiko zur Bildung von Rezidiven und Metastasen und führen auch zu einer deutlich kürzeren Überlebenszeit im Vergleich zu low-grade-Tumoren (BLACKWOOD et al., 2012).

Das Kiupel-System konnte auch in nachfolgenden Studien seine höhere Übereinstimmungsquote unter Beweis stellen und scheint einen hohen prognostischen Wert zu haben (GIANTIN et al., 2012; TAKEUCHI et al., 2013; VASCELLARI et al., 2013), v. a. wenn es um die Einschätzung von mittelgradig differenzierten Tumoren geht.

Im Februar 2013 hat die Arbeitsgruppe für Mastzelltumoren der VCS Oncology-Pathology Working Group eine Empfehlung für die Gradeinteilung von MCT ausgesprochen (HERSHEY & HALSEY, 2013). Da beide Systeme ihre Schwächen haben und oftmals subjektive Kriterien zu beurteilen sind, wie die bizarren Zellkerne bei dem System nach Kiupel, sollen bis zum Vorliegen neuer Studien beide Einteilungen, nach Patnaik und nach Kiupel, durch den Pathologen angegeben werden.

Zudem belegen zwei Studien aus dem Jahr 2015, dass eine Prognose über das biologische Verhalten von MCT anhand einer alleinigen histologischen Gradeinteilung eigentlich nicht mehr abgegeben werden kann (SABATTINI et al., 2015; STEFANELLO et al., 2015). Der histologische Grad sollte durch die Angabe des mitotischen Index, den c-KIT-Status und durch die Untersuchung von Proliferationsmarkern weiter ergänzt werden. Des Weiteren empfiehlt die Mast Cell Tumor Subgroup, den histologischen Tumorgrad immer in Verbindung mit den Ergebnissen der klinischen Untersuchung zu bewerten. Dabei spielen Tumorgroße, Tumorlokalisation, Vorhandensein von Metastasen (Stage), Zustand der OP-Ränder und die prognostischen Faktoren weitere wichtige Rollen.

### **2.5.2. Lokalisation**

MCT des Hundes können als kutane oder subkutane Umfangsvermehrungen alle Körperregionen des Tieres betreffen. Neoplasien im inguinal Inguinalbereich oder an mukokutanen Übergängen scheinen, unabhängig vom Tumorgrad, in manchen

Studien einen schlechteren Verlauf zu nehmen (CAHALANE et al., 2004) (SFILIGOI et al., 2005). Dies ist aber kontrovers diskutiert, da oftmals in diesem Bereich kaum großflächige Operationen möglich sind. Unbestritten ist jedoch, dass MCT des Magendarmtraktes oder mit Beteiligung des Knochenmarks eine sehr schlechte Prognose haben (IWATA et al., 2000) (TAKAHASHI et al., 2000) (OZAKI et al., 2002) (MARCONATO et al., 2008).

### **2.5.3. Metastasen**

MCT des Hundes können in die regionären LK, Leber, Milz und das Knochenmark metastasieren. Bei dem Großteil dieser Patienten werden die regionären LK und dann Milz und Leber befallen. Das Vorhandensein von Metastasen ist im Allgemeinen mit einer schlechten Prognose für das Tier verbunden (BAKER-GABB et al., 2003). Bei Metastasen ist der alleinige zytologische Nachweis von Mastzellen umstritten (SEGUIN et al., 2006). Fernmetastasen bei MCT des Hundes können in ca. 19 % der Fälle auftreten (BAKER-GABB et al., 2003) (MULLINS et al., 2006) (STEFANELLO et al., 2009). Bei schlecht differenzierten Tumoren liegen die Metastasierungsraten zwischen 55 % und 96 % und die meisten Hunde versterben innerhalb eines Jahres (BOSTOCK, 1973) (HUME et al., 2011).

### **2.5.4. Proliferationsmarker (MI, Ki-67, AgNOR, PCNA)**

Wie oben beschrieben, gibt es derzeit keine Möglichkeit, MCT in ihrem biologischen Verhalten richtig einzuteilen. Somit ist es oft schwierig für den Tierarzt, eine Prognose über den weiteren Verlauf und Empfehlungen für adjuvante Therapieoptionen auszusprechen. Insbesondere das Verhalten von MCT von Grad II kann im Moment nicht befriedigend beurteilt werden (SCASE et al., 2006) (WELLE et al., 2008). Neben dem Tumorgrad nach Patnaik oder Kiupel wurde daher in den letzten Jahren mit der Auswertung verschiedener Proliferationsmarker eine zusätzliche Möglichkeit gefunden, das Verhalten von MCT besser einzuschätzen.

Einer dieser Proliferationsmarker ist der sog. mitotische Index (MI) oder auch Zellteilungsindex. Er beschreibt die Anzahl der Zellen einer histologischen Probe, die sich in der Zellteilung befinden, und lässt so indirekt eine Aussage über die Zellproliferation zu. Der MI einer Probe wird unter einem Lichtmikroskop in dem Bereich mit der höchsten Mitoseaktivität ausgewertet und dann jeweils pro 10



High Power Fields (HPFs) angegeben. Diese Auswertung erfordert keine Spezialfärbungen der Probe und kann neben der normalen histologischen Untersuchung des HE-Präparates erfolgen.

In einigen Studien aus der Human- und Veterinärmedizin konnte bereits gezeigt werden, dass der MI eine hohe Aussagekraft für den Ausgang von Brustkrebserkrankungen von Mensch und Tier sowie beim Schilddrüsenkarzinom des Hundes besitzt (BIESTERFELD & REITMAIER, 2001) (SARLI et al., 2002).

In einer Studie aus dem Jahr 2007 von Romansik et al. konnte bei der Untersuchung von MCT des Hundes ein deutlicher Zusammenhang zwischen Tumorgad und MI nachgewiesen werden (ROMANSIK et al., 2007). Tumoren von Grad I hatten einen mittleren MI von 1,2; Grad II-MCT einen mittleren MI von 2,0 und Neoplasien von Grad III einen MI von 19,3. Des Weiteren konnte in dieser Studie auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen MI und der MST gezeigt werden. Alle Hunde der Studie mit einem MCT Grad II und einem MI > 5 haben mit einer MST von nur 3 Monaten weniger lang gelebt als die Tiere mit einem MCT Grad II und einem MI < 5 (MST: 80 Monate). Sogar bei MCT von Grad III und einem MI < 5 war die Überlebenszeit deutlich besser als erwartet (ROMANSIK et al., 2007). Ein direkter Zusammenhang zwischen MI, Tumorgad und MST konnte so in dieser Studie gezeigt werden. Die Stufen des MI größer oder kleiner als 5 wurden von Romansik et al. nur anhand der Ergebnisse ihrer Studie eingeführt. Über die Jahre haben verschiedene Autoren versucht, hier Verbesserungen zu etablieren.

Elston et al. haben 2009 in ihrer Studie die Teilnehmer in insgesamt drei Gruppen nach dem MI eingeteilt (ELSTON et al., 2009). So konnten sie statistisch eine Überlegenheit ihrer Einteilung nachweisen. In dem 2-stufigen Einteilungssystem nach Kiupel gelten alle Tumoren mit einem MI > 7 automatisch als high-grade (KIUPEL et al., 2011).

2011 haben Thomson et al. eine Studie mit einer Toleranzgrenze des MI von kleiner und größer als 4 untersucht und konnten auch hier einen Zusammenhang zwischen MI und Überlebenszeiten, Rezidiv oder Metastasen zeigen (THOMPSON et al., 2011). Eine neuere Studie aus 2013 unterstützt wiederum die Studie von Romansik et al. mit der Grenze des MI bei 5 (O'CONNELL & THOMSON, 2013). Die Einteilung des MI in drei Gruppen, die schon bei Elston

et al. eine bessere Vorhersage anhand des MI gezeigt hat, konnte 2015 durch v. Lelyveld et al. weiter empfohlen werden (VAN LELYVELD et al., 2015). Der prognostische Wert des MI erhöht sich so deutlich und die Überlebenszeiten können präziser vorausgesagt werden.

Eine Einteilung des MI in drei Stufen zur Auswertung erscheint daher einem 2-Stufen-System überlegen zu sein. Bisher sind die genauen Grenzwerte für jede Gruppe jedoch noch nicht klar definiert.

Der MI ist bei MCT des Hundes ein wichtiger Proliferationsmarker und korreliert mit dem Tumorgrad und der Überlebenszeit. Auch hier gilt wieder, dass der MI nicht als alleiniges Kriterium zur Vorhersage des biologischen Verhaltens verwendet werden sollte. Nur in Zusammenhang mit anderen Einteilungshilfen hilft er, die Prognose für den Hund besser abzuschätzen.

Neben dem mitotischen Index gibt es eine ganze Reihe weiterer sog. Proliferationsmarker, die für die Einschätzung der Prognose bei MCT helfen können. Allgemein teilt sich die Zellproliferation in zwei Bereiche auf: den Anteil der Zellen, der sich gerade in der Zellteilung befindet, und daneben den Anteil, welcher sich im Zellwachstum befindet. Es existiert im Moment leider kein Marker, der gleichzeitig beide Bereiche der Zellproliferation eines Tumors bewertet, und daher sollten immer mehrere dieser Marker zusammen bestimmt werden, um eine korrekte Beurteilung der Zellproliferation vornehmen zu können. Bei der Bestimmung der Marker gibt es derzeit noch sehr viele verschiedene Methoden und keine einheitliche Vorgehensweise. So unterscheiden sich oft die Zählmethoden, die Anzahl der ausgewerteten Felder unter dem Mikroskop und auch die Färbemethoden in den oben aufgeführten Studien.

Neben dem mitotischen Index sind weitere Proliferationsmarker Ki-67, AgNORs und Proliferating cell nuclear antigen (PCNA). AgNORs sind nukleolusorganisierenden Regionen, die mit einer Silberfärbung auf Zellpräparaten sichtbar gemacht werden können. Ki-67 ist ein Protein, welches in allen aktiven Phasen des Zellzyklus (G1, S, G2, M) nachgewiesen werden kann, jedoch in der G0-Phase und damit in jeder ruhenden Zelle fehlt (ROELS et al., 1999). Diese Eigenschaft macht Ki-67 zu einem sehr guten Marker zur Bestimmung der Zellteilungsrate / Wachstumsfraktion in einer vorgegebenen Population von Zellen (SCHOLZEN & GERDES, 2000) (WEBSTER et al., 2007). In der

Veterinärmedizin wird zum immunhistochemischen Nachweis der Expression von Ki-67 beim Hund der monoklonale Antikörper MIB-1 (Molecular Immunology Borstel) verwendet (LAPRIE et al., 1998) (ROELS et al., 1999). Es wird die Anzahl an Ki-67-positiven Zellen ausgewertet, um die Anzahl der Zellen zu bestimmen, die sich im aktiven Teil des Zellzyklus befinden.

In einer der ersten Studien von Abadie et al. aus dem Jahr 1999 konnte bei 120 Hunden mit kutanen MCT gezeigt werden, dass ab einer Anzahl von mehr als 93 Ki-67-positiven Zellen pro 1000 Zellen die Überlebenszeit der Patienten deutlich kürzer war (ABADIE et al., 1999).

In zwei folgenden Studien wurden in mikroskopischen Aufnahmen die Anzahl der Mastzellen und die Anzahl der positiven Mastzellkerne ausgezählt und ein Grenzwert bei  $> 1,8 \%$  Ki-67-positiven neoplastischen Zellen festgelegt (SCASE et al., 2006) (MAGLENNON et al., 2008). Für Hunde mit einem Grad II-MCT, die über diesem Wert lagen, zeigten sich dabei deutlich kürzere Überlebenszeiten (SCASE et al., 2006) und auch ein höheres Risiko, an den Folgen der Neoplasie zu versterben (MAGLENNON et al., 2008). Als diagnostischer Test hatte dieser Grenzwert eine Sensitivität von 79 % und eine Spezifität von 90 % in Bezug auf die Todesursache (MAGLENNON et al., 2008).

Mit der Angabe des Ki-67-Index könnte es anhand dieser beiden Studien für Tierärzte möglich sein, bei Grad II-MCT diejenigen Fälle herauszufiltern, welche von einer weiteren Therapie oder einer engeren Überwachung profitieren würden.

Mit einer anderen Auswertungsmethode haben 2007 Webster et al. den prognostischen Wert von Ki-67 untersucht und ebenfalls bestätigt. Hier wurden die Proben immunhistochemisch angefärbt und die Bereiche mit dem höchsten Anteil an positiven Zellen ausgewertet. In jeder Probe wurden so fünf HPFs ausgewertet (WEBSTER et al., 2007). So ergab sich in dieser Studie ein Grenzwert von 23 positiven Zellen pro Netzbereich. Falls dieser Wert von einem Studienteilnehmer überschritten wurde, war die Gefahr eines lokalen Rezidivs ( $P=.0017$ ), eines neuen Tumors an einer anderen Stelle ( $P=.0081$ ) oder der Todesursache MCT ( $P=.0022$ ) signifikant höher als bei Hunden, die unter dem Grenzwert von 23 lagen. Eine weitere Studie konnte so, die Bedeutung von Ki-67 als prognostischem Marker bei MCT bestätigen.

In einer italienischen Studie aus dem Jahr 2013 haben Vascellari et al. mit einem

weiteren Bewertungssystem gearbeitet. Insgesamt wurden dabei 53 MCT auf ihre Expression von Ki-67 immunhistochemisch ausgewertet. Bei jeder Probe wurden 500 Zellen gezählt und dabei die immunpositiven Zellen pro 100 Zellen angegeben. Pro Probe wurden fünf zufällige HPFs ausgewertet. Mit dieser Methode konnte hier ein Grenzwert für Ki-67 von 10,6 festgelegt werden. Von 40 Fällen mit einem Ki-67-Index von  $< 10,6$  starben drei Tiere. In der Gruppe mit einem Index  $> 10,6$  sind von 13 Fällen fünf Hunde gestorben. Somit war die Wahrscheinlichkeit, an dem MCT zu sterben, in der Gruppe mit einem Ki-67-Index  $> 10,6$  deutlich größer (VASCELLARI et al., 2013).

Nachdem die oben genannten Studien zeigten, dass ein hoher Ki-67-Index ein hohes Risiko darstellt, durch den MCT zu sterben, haben von v. Lelyveld et al. 2015 den Zusammenhang von Ki-67 und dem MI bei MCT des Hundes untersucht (VAN LELYVELD et al., 2015). Für den MI wurde ein Grenzwert von fünf Mitosen pro zehn HPFs gewählt. Das zuständige Labor teilte für den Ki-67-Index die Hunde anhand eines Bewertungssystems in zwei Gruppen ein. Die Punkte errechneten sich durch eine Kombination der Auswertungen nach Scase (SCASE et al., 2006) und Webster (WEBSTER et al., 2007). In dieser Studie war der Zusammenhang zwischen dem MI und Ki-67 nur als moderat anzusehen. In der Einzelbetrachtung konnte ein hoher MI genau den Tod durch den MCT vorhersagen, wobei auch Tiere mit einem niedrigen MI durch den Tumor gestorben sind. Ein niedriger Ki-67-Index war, dieser Studie nach, prognostisch für das Überleben der Patienten mit dieser Erkrankung. Im Gegenzug sollte ein hoher Ki-67-Index aber nicht automatisch als negativ prognostischer Faktor verwendet werden. Der hier berechnete Ki-67-Index zeigte sich als sehr sensitiv (86,5 %), aber kaum spezifisch (57,6 %) für eine Todesvorhersage (VAN LELYVELD et al., 2015). Van Lelyveld et al. sehen hierbei den mitotischen Index als prognostischen Faktor im Vorteil gegenüber Ki-67.

Eine brasilianische Studie aus dem Jahr 2015 von Fonseca-Alves et al. hat bei 35 MCT-Proben von Boxern das Ki-67-Protein zusammen mit dem KIT-Protein ausgewertet und versucht, einen Zusammenhang zu zeigen (FONSECA-ALVES et al., 2015). Von 69 Boxern konnte 35 Proben immunhistochemisch für beide Proteine angefärbt werden. Innerhalb einer Probe wurden alle KIT-positiven Zellen gezählt und davon nochmal alle Ki-67-positiven Zellen, um einen Prozentsatz der doppelt angefärbten Zellen zu erhalten (FONSECA-ALVES et al.,

2015). Es ergaben sich somit zwei Gruppen (Ki67+/KIT+ und Ki67-/KIT+). Bei der Auswertung der Ergebnisse konnte in einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve gezeigt werden, dass Boxer mit MCT und Ki67+/KIT+ kürzere Überlebenszeiten hatten als diejenigen mit Ki67-/KIT+ Zellen.

Ein weiterer Marker aus der Gruppe der Proliferationsmarker sind die Nukleolusorganisierenden Regionen, die mit einer Silberfärbung auf Zellpräparaten sichtbar gemacht werden können (AgNORs). Es handelt sich dabei um Proteine, die als funktionelle Einheiten des Nukleolus alle Komponenten für die ribosomale RNA-Synthese beinhalten (DERENZINI, 2000). In histologischen Schnitten können AgNORs als diskrete schwarze, nukleoläre Foki mit einer Silberfärbung identifiziert werden (PLOTON et al., 1986). Durch ihre Beteiligung an der DNA-Synthese und metabolische Aktivitäten in den Zellen werden Größe und Anzahl der AgNOR-Proteine zur Bestimmung der Kernaktivität herangezogen (MADEWELL, 2001). Die Menge an AgNORs pro Zellkern steigt zunehmend in den Zellen von der G0- bis zur S-Phase an (MADEWELL, 2001) und korreliert so mit Zellproliferationsrate (WEBSTER et al., 2007) und der Tumorstadiumsrate in vivo beim Menschen (OGURA et al., 1992) (TRERE et al., 1996). In der Humanmedizin werden AgNORs schon lange bei verschiedenen Tumoren, wie z. B. Pharynxkarzinom, multiples Myelom, Prostatakarzinom oder Nierenkarzinom, als prognostisch relevant von den Pathologen angesehen (PICH et al., 2000).

Bei MCT des Hundes wurden diese Proteine zum ersten Mal 1989 von Bostock et al. untersucht (BOSTOCK et al., 1989). Hier wurde die durchschnittliche Anzahl der AgNORs mit dem histologischen Tumorstadium in 50 MCT verglichen. In Paraffinschnitten wurde mit einer Silberfärbung nach Ploton et al (PLOTON et al.) die Anzahl der AgNORs in 100 Zellen bestimmt. Anhand der Einteilung von Bostock et al. wurden die Tumoren histologisch in drei Gruppen eingeteilt, zudem wurde der MI bestimmt. In der Gruppe der gut differenzierten MCT lag die mittlere Anzahl an AgNORs bei 1,4 pro Zelle, die mittelgradig differenzierten waren bei einem Mittelwert von 3,2 AgNORs pro Zelle und die schlecht differenzierten Neoplasie waren bei 6,3 AgNOR-Proteinen pro Zelle. Am Ende der Studie zeigte sich, dass 73 % der Tiere mit einem Wert > 4,9 durch die Tumorerkrankung gestorben sind. Bei der mittleren Gruppe (1,7 – 4,8) war das nur bei 33 % der Fall. In der Gruppe der gut differenzierten Tumoren, die einen

Wert  $< 1,7$  AgNORs pro Zelle aufwiesen, ist kein Hund tumorbedingt verstorben (BOSTOCK et al., 1989). Mit diesen Ergebnissen bestätigte sich der Eindruck aus der Humanmedizin (PICH et al., 2000).

Im Jahr 1994 haben Simoes et al. auch die prognostische Qualität von AgNORs bei MCT des Hundes untersucht. Die mittlere Anzahl an AgNORs wurde pro 100 Zellen und pro 200 Zellen untersucht. In der Auswertung zeigten sich bei dem AgNOR-Wert in 100 Zellen die signifikantesten Unterschiede. Die Patienten wurden nach der OP nach 3,6 und 9 Monaten auf MCT-Rezidive untersucht. Den besten prognostischen Wert hatte hier der AgNOR 100 für 3 Monate tumorfreie Zeit. Bei der Bestimmung des Langzeitüberlebens war ein Wert von weniger als 2,25 AgNORs pro 100 Zellen prognostisch für ein längeres Überleben (SIMOES et al., 1994). Sowohl für Überlebenszeit als auch für die Rezidivrate und das Metastasierungspotential konnte in dieser Studie ein prognostischer Wert für AgNORs bestätigt werden.

Nach diesen beiden vielversprechenden Studien haben Kravis et al. 1996 in ihrer Studie zusätzlich gezeigt, dass auch in FNA-Biopsien von MCT die Dichte an AgNORs bestimmt werden kann und diese Ergebnisse gut mit den Werten aus histologischen Proben korrelieren. Zudem konnte gezeigt werden, dass die Werte der FNA auch auf den Tumorgrad schließen lassen (KRAVIS et al., 1996).

Zur Beurteilung der lokalen Rezidivgefahr nach inkompletter Exzision haben Seguin et al. 2006 eine Studie mit 30 MCT von Grad II auf prognostische Faktoren hin untersucht. Die Auswertung der Schnitte im Hinblick auf die Bestimmung der AgNOR-Proteine erfolgte nach den gleichen Maßstäben wie in der Studie von Simoes et al. Der Mittelwert für Granula in AgNOR-positiven Zellen pro 100 Kerne war 119 für nicht wiederkehrende Tumoren und 148 für rezidivfreudige Neoplasien (SEGUIN et al., 2006). Auch wenn in dieser Studie die erzielten Werte höher waren als in der Studie von Simoes et al., so sind doch die Werte logarithmisch nicht verschieden. Die MCT zeigen je nach AgNOR-Wert das gleiche Verhalten wie in vorherigen Studien.

Auch aus dem Jahr 2006 stammt eine Studie von Scase et al., in der untersucht wurde, ob die bekannten Proliferationsmarker in der Lage sind, das Verhalten von MCT beim Hund vorherzusagen (SCASE et al., 2006). In dieser Studie wurden zum ersten Mal in der Veterinärmedizin die Leitlinien des internationalen

AgNOR-Komitees beachtet und eingehalten (AUBELE et al., 1994). Da bis dahin jede tiermedizinische Studie verschiedene Färbetechniken verwendete, war es nur schwer möglich, die Ergebnisse zu vergleichen und zu bewerten. Die komplette Anzahl an AgNOR-Punkten pro neoplastischem Mastzellkern wurde hier bis zu einem Maximum von 200 Kernen gezählt und der Mittelwert daraus errechnet. Die AgNOR-Werte lagen zwischen 1,13 und 1,4 im Mittel. Auch in dieser Studie konnte ein Zusammenhang von AgNOR-Wert und Überleben mit einem Grenzwert bei 1,8 statistisch bewiesen werden. Eine Aussage über längere Überlebenszeiten wäre also damit denkbar, nur leider zeigte es sich, dass die AgNOR-Proteine nur im Zusammenhang mit dem histologischen Grad eine solche Aussage ermöglichen und nicht als alleiniger Faktor (SCASE et al., 2006). Diese Tatsache reduziert deutlich die Aussagekraft der AgNOR-Proteine als prognostischem Faktor. Jedoch wäre es gut, wenn zukünftige Studien auch die internationalen AgNOR-Vorgaben beachten, um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Im Jahr 2007 haben Webster et al. in ihrer Studie 56 Hunde mit MCT untersucht. Bei der immunhistochemischen Färbung zur Auswertung der AgNORs wurde wieder das Verfahren nach Ploton et al. angewendet (PLOTON et al., 1986). - 100 neoplastische Zellen wurden pro Fall ausgewertet. Hohe AgNOR-Werte zeigten auch in dieser Studie einen signifikanten Zusammenhang mit einer hohen Rezidivgefahr und einem steigenden Risiko, an der Neoplasie zu versterben (WEBSTER et al., 2007).

Alle diese Studien zeigen, dass die zelluläre Proliferation bei MCT des Hundes eine wichtige Rolle für die Progression der Neoplasie spielt. In Bezug auf die AgNOR-Proteine muss es in Zukunft zur Etablierung einer einheitlichen Methode für Anfärbung und Auswertung kommen, um eine belastbare Einschätzung der tatsächlichen Aussagekraft dieser Angabe machen zu können. Als alleiniger prognostischer Faktor eignen sich die AgNORs derzeit noch nicht. Als Teilinformation liefern sie aber schon heute gute Hinweise über den Verlauf von MCT des Hundes.

Beide bisher beschriebenen Proliferationsmarker, Ki-67 und AgNORs, erlauben jeweils nur eine Aussage über einen Teil der Zellpopulation. Ki-67 wird für die Wachstumsfraktion und AgNORs für die Proliferationsfraktion herangezogen (WEBSTER et al., 2007). Die Kombination aus beiden würde demnach den

besten Überblick über den Gesamtzustand einer zu bewertenden Zellpopulation geben. Eine kombinierte Beobachtung dieser beiden Proliferationsmarker wurde in der Veterinärmedizin schon in verschiedenen Studie durchgeführt (WEBSTER et al., 2007) (SMITH et al., 2015). Sowohl für hohe Ki-67-Werte als auch für hohe AgNORs-Werte konnte ein signifikanter Zusammenhang mit der Rezidivgefahr und einer gesteigerten Mortalitätsrate gezeigt werden (WEBSTER et al., 2007). In der gleichen Studie wurden Grenzwerte für Ki-67 von  $> 23$  Zellen pro Netzbereich und für AgNORs  $> 54$  pro Zellkern definiert. Legt man beide Werte zu einem Punktestand zusammen, so wurden ab einer Wertung von über 54 ein höheres Metastasierungsrisiko und eine höhere Mortalität gezeigt, 60 % der Hunde in dieser Gruppe starben innerhalb von 12 Monaten nach der Diagnose (WEBSTER et al., 2007; SLEDGE et al., 2016).

In der Studie von Smith und Kollegen wurde mit der Ki-67xAgNOR-Bewertung gezeigt, dass bei einer inkompletten Entfernung eines Grad II-MCT mit niedriger Proliferationsaktivität eine weitere Therapie nicht nötig sein muss (SMITH et al., 2015).

PCNA stammt ebenfalls aus der Gruppe der Proliferationsmarker bei MCT des Hundes. Dieses Protein ist ein zentraler Koordinator aller DNA-Transaktionen und spielt eine wichtige Rolle in der DNA-Replikation, -Reparatur sowie der Regulation des Zellzyklus und ist in der Humanmedizin bei vielen Tumorarten ein Proliferationsmarker (LV et al., 2015). PCNA gehört in der Phase der Zellproliferation zur Wachstumsfraktion (SIMOES et al., 1994) und kann zuerst in der mittleren G1-Phase nachgewiesen werden; sein Maximum erreicht es in der S-Phase, ehe es in der G2-Phase wieder abfällt (ROELS et al., 1999). Während der Mitose wird es nicht exprimiert (BOLTON et al., 1992).

1994 haben Simoes et al. neben AgNOR-Proteinen auch die Aussagekraft von PCNA für die Prognose von MCT beim Hund untersucht (SIMOES et al., 1994). Der PCNA-Index errechnete sich in dieser Studie aus der Anzahl positiver Zellkerne einer Tumorseite in 500 und 1000 Zellen. Eine semi-quantitative Einschätzung der proliferativen Zellfraktion konnte durch das Auszählen aller positiven Zellkerne in 5 HPFs errechnet werden. Die positiven Zellkerne färben sich von orange bis rot und es zeigte sich, dass die Anzahl PCNA-positiver Zellen signifikant höher in metastasierten Tumoren war als in rezidivfreien Neoplasien.



In der Studie wurden die Patienten in drei Gruppen, je nach Dauer bis zum Rezidiv, eingeteilt. Die Auswertung der PCNA-positiven Zellen in fünf HPFs ergab die höchste Aussagekraft für ein Rezidiv nach sechs Monaten ( $P = 0,010$ ). Im Hinblick auf die Überlebensrate konnte bei PCNA ein Grenzwert von 261 positiven Zellen in fünf HPFs gezeigt werden. Patienten mit Werten unter 261 lebten signifikant länger als andere Tiere mit höheren Werten. Obwohl Anfärbung und Auswertung von PCNA zeitaufwendiger und fehleranfälliger waren, konnte doch ein prognostischer Wert für PCNA in Bezug auf die rezidivfreie Zeit und das Überleben gezeigt werden.

Abadie et. al konnten 1999 ebenfalls zeigen, dass die Anzahl PCNA-positiver Kerne pro 1000 Zellen signifikant höher in Hunden war, die an ihrem MCT verstorben sind (ABADIE et al., 1999).

Beide genannten Studien bestätigen daher, dass eine hohe Anzahl an PCNA-positiven Zellen mit der Länge der rezidivfreien Zeit nach Operation und mit der Überlebenszeit korrelieren (MADEWELL, 2001).

In einer Studie aus dem Jahr 2006, die sich mit der Prognose für inkomplett entfernte Grad II-MCT beschäftigte, konnte in Bezug auf PCNA jedoch nur eine statistisch relevante Aussagekraft für die Kombination PCNA und Ki-67 in Bezug auf die Gefahr eines lokalen Rezidivs gezeigt werden (SEGUIN et al., 2006).

Weitere Studien aus den Jahren 2006 und 2007 von Scase et al. und Webster et al. haben jedoch keinen signifikanten prognostischen Nutzen für die Angabe von PCNA bei MCT des Hundes zeigen können (SCASE et al., 2006; WEBSTER et al., 2007).

#### **2.5.5. c-KIT-Expression und KIT-Mutation**

Das Protein KIT (c-KIT/CD 117) wurde 1987 als Homolog des viralen Onkogens v-KIT entdeckt (YARDEN et al., 1987) und gehört zur Gruppe der Rezeptor-Tyrosinkinasen. Es befindet sich in der Zellmembran verschiedener Körperzellen und spielt bei der Signaltransduktion innerhalb der Zellen, der Zellproliferation und -differenzierung eine wichtige Rolle. Es stellt das Rezeptorprotein für den Stammzellfaktor da, welcher u. a. das Wachstum von Mastzellen stimuliert (LENNARTSSON & RONNSTRAND, 2012).

Immunhistochemisch können drei Expressionsmuster von c-KIT bestimmt werden

(REGUERA et al., 2000) (MORINI et al., 2004):

- Expressionsmuster I (physiologisch)
  - . Lokalisation: perimembranös
- Expressionsmuster II
  - . Lokalisation: fokal zytoplasmatisch
  - . aberrante Expremierung
- Expressionsmuster III
  - . Lokalisation: diffus zytoplasmatisch
  - . aberrante Expremierung

Inwieweit man mit dem Wissen über die Lokalisation von KIT eine Aussage zur Prognose eines MCT machen kann, ist umstritten. Es gibt Studien, bei denen eine fokale oder diffuse zytoplasmatische Lokalisation des Proteins höhere Rezidivraten und kürzere Überlebenszeiten für die Hunde bedeutete, jeweils im Vergleich zu MCT mit einer perimembranösen KIT-Expression (REGUERA et al., 2000) (ZEMKE et al., 2002) (WEBSTER et al., 2006). Auf der anderen Seite konnten andere Autoren keinen Zusammenhang zwischen dem KIT-Expressionsmuster und einer schlechteren Prognose zeigen (PREZIOSI et al., 2004b) (GIANTIN et al., 2012) (COSTA CASAGRANDE et al., 2015). Dennoch geht man davon aus, dass eine Störung der c-KIT-Expression mit einer schlechteren Prognose, einem höheren Risiko für Metastasen und einer höheren Rezidivgefahr verbunden ist (ZEMKE et al., 2002) (KIUPEL et al., 2004). Das Expressionsmuster ist zur Zeit kein separater prognostischer Faktor bei MCT des Hundes. In verschiedenen Studien konnte aber schon ein signifikanter Zusammenhang mit den Proliferationsmarkern Ki-67 und AgNOR aufgezeigt werden (GIL DA COSTA et al., 2007) (WEBSTER et al., 2007). Für eine Einschätzung des Ansprechens auf eine Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) wurde die Lokalisation von KIT bislang in noch keiner Studie untersucht.

Bei Mutationen im c-KIT-Gen kommt es zu Duplikationen innerhalb der DNA, sog. internal tandem duplications (ITD). Diese Mutationen kommen bei 8,3 % – 17 % aller MCT vor (ZEMKE et al., 2002) (WEBSTER et al., 2006) (GIANTIN et al., 2012) (TAKEUCHI et al., 2013). Am häufigsten ist dabei Exon 11 betroffen (LONDON et al., 1999) (KIUPEL et al., 2004) (LETARD et al., 2008). Des Weiteren können auch die Exons 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 15 und 17 betroffen sein

(KIUPEL et al., 2004) (LETARD et al., 2008) (TAKEUCHI et al., 2013). Downing et al. haben in ihrer Studie gezeigt, dass 35 % der Grad II- und Grad III-Tumoren Mutationen aufzuweisen hatten, bei Tumoren von Grad I waren es nur 8 % (DOWNING et al., 2002). Mit dem Auftreten von Entartungen innerhalb des c-KIT-Gens hatten die betroffenen Tiere in den verschiedenen Studien eine höhere Rezidivgefahr, ein höheres Risiko für Metastasen, kürze Überlebenszeiten und auch ein erhöhtes Risiko, an den direkten Folgen des MCT zu versterben (REGUERA et al., 2000) (DOWNING et al., 2002) (ZEMKE et al., 2002) (WEBSTER et al., 2006) (RIVA et al., 2005). Marconato et al. konnten in ihrer Studie 2014 die gleichen c-KIT-Mutationen in Primärtumor und Metastasen bei Hunden mit MCT nachweisen (MARCONATO et al., 2014).

Durch die zentrale Rolle von c-KIT für die Zellentwicklung führen Veränderungen in diesem Bereich zu einer erhöhten Zellproliferation und zu einer erhöhten Mikrogefäßdichte (PATRUNO et al., 2014). Da eine vermehrte Zellproliferation durch den MI bestimmt werden kann und eine wichtige Rolle für das Grading von MCT hat (ROMANSIK et al., 2007) (KIUPEL et al., 2011), kann die Aussage über eine Entartung von c-KIT in den nächsten Jahren eine entscheidende Rolle spielen, vor allem wenn sensitivere Methoden zur Untersuchung möglich werden (GENTILINI et al., 2015).

In Bezug auf ein besseres Ansprechen von MCT mit einer Mutation von c-KIT auf eine Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) konnten in den beiden Zulassungsstudien von Toceranib und Masitinib bessere Ansprechraten bei Tieren mit ITDs gezeigt werden (LONDON et al., 2009) (HAHN et al., 2008). In der Studie von Hahn et al. bedeutete dies für Hunde mit einer Mutation höhere Ansprechraten auf die Therapie nach sechs Monaten und eine längere krankheitsfreie Zeit (HAHN et al., 2008). In einer anderen Studie mit einer Kombinationstherapie aus Toceranib und Strahlentherapie hatten jedoch Hunde mit einer c-KIT-Mutation kürzere Überlebenszeiten (CARLSTEN et al., 2012). Mit dem Nachweis einer Entartung des Proteins c-KIT scheint es möglich zu sein, ein besseres Ansprechen auf eine Therapie mit TKI für gewisse Patienten treffen zu können. Ein bestimmter Prozentsatz an Tieren spricht aber auch ohne eine Mutation auf eine Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren an (WEBSTER et al., 2008) (HAHN et al., 2008) (LONDON et al., 2009). Die Mastcell Tumor Subgroup der Vetcancersociety sieht in ihrem Konsensdokument aus dem Jahr

2015 (THAMM & WEBSTER, 2015) den größten Nutzen einer Untersuchung auf eine Mutation von c-KIT in der Identifikation von histologisch gut differenzierten Tumoren, die zu einem biologisch aggressiveren Verhalten neigen. Des Weiteren verbessert die Bestimmung einer c-KIT Mutation auch die Prognose für ein besseres Ansprechen einer Behandlung mit TKI. Für das Expressionsmuster sieht das Konsensdokument die größte Aussagekraft bei der Identifikation von Tumoren die eher nicht zu einem progressiven Krankheitsverlauf tendieren.

#### **2.5.6. Kernmorphologie**

Die Beurteilung der Kernmorphologie in MCT-Proben konnte in Studien einen schnell durchführbaren und preiswerten Zusammenhang mit Outcome und Tumorgrad zeigen (STREFEZZI et al., 2003) (STREFEZZI RDE et al., 2009).

#### **2.5.7. Intratumorale Mikrogefäßdichte (intratumor microvessel density)**

Ein weiterer Faktor für die Prognose eines MCT beim Hund könnte in Zukunft auch die intratumorale Mikrogefäß-Dichte sein. In verschiedenen Studien konnte hierfür eine Korrelation mit der Invasivität, der Mitoserate und der Prognose nachgewiesen werden (PREZIOSI et al., 2004a) (PATRUNO et al., 2009).

#### **2.5.8. Fibroblast Activating Protein (FAP)**

Neben den bisherigen Bemühungen, die sich insbesondere mit dem Tumor an sich und seinen histologischen Eigenschaften beschäftigen, haben sich Giuliano et al. mit der Umgebung des Tumors auseinandergesetzt. Giuliano et al. haben die Expression einer membranständigen Serinprotease untersucht, dem sog. fibroblasten-aktivierten Protein (FAP) (GIULIANO et al., 2016). Dieses Protein wird von tumor-assoziierten Fibroblasten expremiert (HALSEY et al., 2014), aber nicht von normalen Fibroblasten (GHERSI et al., 2002). In der Studie von Giuliano et al. konnten FAPs in 90 % der untersuchten MCT-Proben nachgewiesen werden und die Expression korrelierte positiv mit dem histologischen Tumorgrad, dem mitotischen Index und der Ki-67-Expression (GIULIANO et al., 2016). In Zukunft könnte die FAP-Expression als negativ prognostischer Marker für MCT eine Rolle spielen.

### **2.6. Behandlung**

Die Therapieoptionen und -entscheidungen richten sich nach dem klinischen Grad der Erkrankung (Staging nach WHO) und nach vorhandenen negativ

prognostischen Faktoren (BLACKWOOD et al., 2012).

### **2.6.1. Chirurgie**

Bei der Behandlung von MCT ist die operative Entfernung meist das Mittel der Wahl, insbesondere, wenn es sich um ein rein lokales Problem handeln sollte (GOVIER, 2003). Das Ziel ist dabei eine komplette Entfernung der Neoplasie. Die ursprüngliche Empfehlung für die chirurgische Entfernung von MCT lautet, die OP mit einen Rand von 3 cm um den Tumor und einer Faszien-schicht in die Tiefe zu planen (LONDON & THAMM, 2013). In einer Studie von Seguin et al. aus dem Jahr 2001 konnten so 95 % der Teilnehmer mit einem MCT, der kleiner als 4 cm im Durchmesser war, mit einem chirurgischen Eingriff erfolgreich behandelt werden (SEGUIN et al., 2001). Da dieses Vorgehen oftmals nur durch eine genaue Planung der OP, lange Operationszeiten und einen großen postoperativen Weichteildefekt eingehalten werden kann, ist diese Randempfehlung immer wieder Thema in Studien. Neue Studien haben gezeigt, dass MCT von Grad I und II schon mit einem Rand von bis zu 2 cm und einer Faszien-schicht in die Tiefe kurativ entfernt werden können (SIMPSON et al., 2004) (FULCHER et al., 2006). In der Studie von Simpson et al. wurden alle MCT Grad I schon bei einem Rand von 1 cm um die palpierbaren Tumorgrenzen komplett entfernt; mit einem Rand von 2 cm dann auch alle Grad II-Tumoren der Studie (SIMPSON et al., 2004). Sowohl bei Simson et al. als auch bei Fulcher et al. konnten postoperativ keine Mastzellen in den Tumorbettbiopsien nachgewiesen werden (SIMPSON et al., 2004) (FULCHER et al., 2006). Man geht davon aus, dass die Resektion von einer Faszien-schicht in die Tiefe bei MCT von Grad I und II ausreichend ist, da diese Grenze von neoplastischen Mastzellen in keiner Patientenprobe der Studien überschritten wurde (SIMPSON et al., 2004) (FULCHER et al., 2006).

Eine neuere Studie aus dem Jahr 2011 zeigte sogar, dass die meisten MCT von Grad I und II schon mit einem Rand von mehr als 1 cm zur Seite und mehr als 4 mm in die Tiefe erfolgreich entfernt werden konnten (SCHULTHEISS et al., 2011) und somit die Operation weit weniger invasiv geplant werden kann als bisher empfohlen.

Im Jahr 2013 haben Pratschke et al. einen modifizierten Ansatz zur chirurgischen Entfernung von MCT getestet, der unabhängig von Tumorgrad und Lokalisation

sein soll. Bei diesem Vorgehen werden die seitlichen Tumorränder anhand des Durchmessers der Neoplasie gewählt (z. B. Tumordurchmesser 1,5 cm -> Ränder 1,5 cm). Sollte der Tumor größer als 4 cm im Durchmesser sein, so wird mit einem fixen Rand von 4 cm operiert. Es wurden in 85 % der Fälle saubere Tumorränder erreicht und es kam insgesamt bei nur einem Patienten zu einem lokalen Rezidiv (PRATSCHKE et al., 2013). Dieser Ansatz könnte eine praktische und mehr am Wohl des Patienten orientierte Möglichkeit darstellen, einen chirurgischen Eingriff auch in schwierigen Lokalisationen zu planen.

Zu beachten gilt aber, dass die Randbeurteilung in Formalin-fixierten Gewebeproben nicht immer den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, da es durch die Fixierung zu einer Gewebeschrumpfung (bis zu 30 % bei Hautgewebe) kommen kann (JOHNSON et al., 1997) (REIMER et al., 2005) (KERNS et al., 2008). Risselada et al. haben 2015 in ihrer Studie die chirurgischen und histologischen Tumorränder bei 51 Proben verglichen (RISSELADA et al., 2015). Dabei waren die histologischen Tumorgrenzen 35 % – 42 % kleiner als die chirurgischen Grenzen, was mit einer Gewebeschrumpfung nach Exzision und Fixation zusammenhängen könnte. Histologische Tumorgrenzen könnten demnach die chirurgisch erforderlichen Grenzen klar unterschätzen (RISSELADA et al., 2015).

Bei den deutlich aggressiveren Grad III-MCT ist nach wie vor die Empfehlung, mit einem seitlichen Rand von 3 cm plus einer Faszien-schicht in die Tiefe zu operieren (BLACKWOOD et al., 2012). Da in diesen Fällen auch die lokale Rezidivgefahr und das Metastasierungsrisiko deutlich höher sind, wird hier ein multimodaler Therapieansatz mit weiterer lokaler und systemischer Therapie angeraten (LONDON & THAMM, 2013).

Die Rezidivrate post Chirurgie liegt meist im Bereich zwischen 17 % bis 38 % (MISDORP, 1987) (MICHELS et al., 2002) (MURPHY et al., 2004) (SEGUIN et al., 2006) (BROCKS et al., 2008) (KRY & BOSTON, 2014). Daher wird bei allen inkomplett resezierten MCT eine erneute Operation oder eine adjuvante Strahlentherapie empfohlen, denn dadurch konnten signifikante Verbesserungen bei der lokalen Kontrolle und der Überlebenszeit erreicht werden (KRY & BOSTON, 2014).

### 2.6.2. Bestrahlung

Eine weitere Form der lokalen Therapie von MCT des Hundes ist die Strahlentherapie. Diese Behandlungsoption kommt vor allem bei MCT Grad II oder low-grade an den distalen Gliedmaßen zum Einsatz. In solchen Fällen ist eine komplette Entfernung der Neoplasie mit einer Operation allein meist nicht möglich.

Die gute Strahlensensitivität dieser Tumorart wurde über die Jahre in verschiedenen Arbeiten untersucht. Eine erste Studie zu diesem Thema stammt aus dem Jahr 1979 von Allan et al. Mit einer Dosis von 3625 rad (entspricht 36,25 Gy) konnten 50 % der MCT dieser Studie lokal kontrolliert werden. Ab einer Dosis von 3750 rad (37,5 Gy) reagierten 50 % der Hunde mit einer nässenden Hautreaktion (ALLAN & GILLETTE, 1979).

In den Jahren danach konnten weitere Studien einen positiven Effekt der Kombination Bestrahlung und Hyperthermie zeigen (THRALL & DEWHIRST, 1985) (LEGORRETA et al., 1988).

Neun Jahre nach der Studie von Allan et al. haben Turrel et al. eine tumorfreie Zeit nach ein und zwei Jahren in 78,8 % bzw. 77 % ihrer Hunde mit MCT nach Bestrahlungstherapie zeigen können. Hier waren das klinische Stadium der Erkrankung, der histologisch Grad der Neoplasie und die Lokalisation prognostisch für die Überlebenszeit (TURREL et al., 1988).

Mit dem zunehmenden Nachweis der Effektivität der Bestrahlungstherapie bei MCT des Hundes haben sich 1996 Al-Sarraf et al. auf die Bestrahlung von Grad II MCT konzentriert. Zwei bis drei Wochen nach der Operation wurden die Hunde (insgesamt 32) mit einer Theratron-80-Cobalt-Einheit bestrahlt. Die Totaldosis von 54 Gy wurde auf 18 Fraktionen zu je 3 Gy aufgeteilt (Mo-Mi-Fr, über 6 Wochen) und das OP-Feld wurde mit einem Rand von 3 cm bestrahlt. Jeder Patient hat das Protokoll ohne Therapiepausen oder -abbruch absolviert. Bei 32 % kam es zu akuten Nebenwirkungen (NW) wie nässenden Hautreaktionen, Schmerzen oder zu einer Bewegungseinschränkung der betroffenen Gliedmaßen. Diese NW heilten aber problemlos ab und die Tiere erholten sich gut. Infolge der hohen Dosis verloren die Patienten gewöhnlich die Haare im bestrahlten Bereich. 94 % (30 Hunde) waren ein Jahr nach RTH tumorfrei und nur bei 6 % (2 Hunde) kam es zu einem Rezidiv. Nach 5 Jahren waren immer noch 86 % ohne ein

Rezidiv (AL-SARRAF et al., 1996). Mit den Daten dieser Studie konnte, im Gegensatz zu Turrel et al. nicht gezeigt werden, dass die Lokalisation eines MCT Einfluss auf die Prognose hat (AL-SARRAF et al., 1996).

Ein Jahr später haben Frimberger et al. ebenfalls mittelmäßig differenzierte MCT in 37 Fällen mit einer Orthovoltage-Einheit oder einem Linearbeschleuniger bestrahlt. Die Totaldosis lag hier bei 46,2 bis 48 Gy und es wurde ebenfalls mit einem Rand von 3 cm um die OP-Narbe geplant. Mit Ergebnissen von 97 % tumorfrei nach einem Jahr und 93 % tumorfrei nach drei Jahren wurde auch hier eine exzellente lokale Kontrollmöglichkeit für MCT des Hundes gezeigt (FRIMBERGER et al., 1997).

Tracy LaDue et al. haben in ihrer Studie 1998 56 Hunde nach inkompletter Tumorresektion mit verschiedenen Bestrahlungsprotokollen behandelt (LADUE et al., 1998). Die MCT wurden mit Cobaltphotonen bestrahlt und je nach Protokoll wurde eine Totaldosis zwischen 45 und 57 Gy in Dosen von 3 bis 4 Gy pro Fraktion erreicht. Die Dauer der Behandlung lag zwischen 14 und 28 Tagen. Auch in dieser Studie konnte eine sehr gute lokale Kontrolle von MCT erreicht werden. Das mediane krankheitsfreie Intervall (DFI) lag hier bei 32,7 Monaten. Durch die verschiedenen Protokolle zeigte sich, dass es bei Hunden, die nur drei Fraktionen pro Woche bekommen haben, öfter zu einem lokalen Rezidiv gekommen ist als bei Patienten, die täglich bestrahlt wurden. Die Autoren entschlossen sich, trotz der geringen Fallzahlen, eine täglich Strahlentherapie zu empfehlen. Vorteilhaft in dieser Studie zeigte sich auch die zusätzliche Bestrahlung der regionären LK, unabhängig vom Ergebnis der FNA (LADUE et al., 1998).

Kelly Chaffin et al. haben sich 2002 mit der Bestrahlung von MCT mit Lymphknotenmetastasen beschäftigt (CHAFFIN & THRALL, 2002). In dieser Studie wurden insgesamt 19 Hunde mit einer Kombination aus Chirurgie, Bestrahlung und Prednisolon behandelt. Tumor und regionäre LK wurden mit Photonen einer Cobalt-60-Einheit bestrahlt. In 16 bis 19 Fraktionen wurden beide Felder mit einer Totaldosis von 48 bis 57 Gy zu je 3 Gy Montag bis Freitag bestrahlt. Akute Nebenwirkungen (Rötung, nässende Hautreaktion, Lahmheit) und späte Nebenwirkungen (Alopezie, Leukotrichie, Hauthyperpigmentation) der Strahlentherapie (RTH) waren stets im akzeptablen Bereich. Mit dieser Kombinationstherapie wurde ein mittleres disease-free survival von 1240 Tagen



bei Hunden mit MCT und Lymphknotenmetastase erreicht (CHAFFIN & THRALL, 2002).

Bei der Bestrahlung von Grad III-MCT des Hundes konnten 2004 Hahn et al. 1 Jahr nach Behandlung Remissionsraten von 65 % und Überlebensraten von 71 % vorweisen. Bestrahlt wurde in dieser Studie mit einer Cobalt-60-Einheit oder einem Linearbeschleuniger (4 MeV). Tumor und regionärer LK wurden mit einem Rand von 3 cm bestrahlt, die Totaldosis lag bei 52,2 Gy und wurde in 18 Fraktionen zu je 2,9 Gy mit einem Mo-Mi-Fr-Protokoll verabreicht. Dabei zeigte sich, dass bei Grad III-MCT die ursprüngliche Größe der Neoplasie eine Rolle für die Prognose spielen kann. Hunde mit einem max. Tumordurchmesser prä OP von weniger als 3 cm haben länger überlebt als Patienten mit einem größeren Tumor (31 gegen 24 Monate). Zudem spielte auch die Lokalisation für die Remissionszeit eine Rolle, da Hunde mit Tumoren an der Pinna, dem Perineum oder dem Präputium länger ohne Rezidiv blieben als andere (27,7 gegen 14,4 Monate). Somit spielen Lokalisation, Größe und Grad eine Rolle bei der Prognose nach RTH (HAHN et al., 2004).

Nach kurativen Protokollen mit den verschiedenen Graden eines MCT und auch teilweise mit Metastasen der Lymphknoten (LK) schlagen Mayer et al. 2006 den palliativen Einsatz der RTH auch bei MCT vor (MAYER, 2006). Mastzellen haben sich als sehr strahlensensitiv erwiesen und eine Verkleinerung des Tumors konnte schon nach wenigen Tagen bis Wochen erreicht werden. Das hier vorgeschlagene Protokoll würde eine Bestrahlung einmal pro Woche über einen Zeitraum von 3 – 4 Wochen vorschlagen (MAYER, 2006).

In einer Studie aus dem Jahr 2006 haben Poirier et al. bei 45 Hunden die Effektivität und Toxizität von zwei Bestrahlungsprotokollen verglichen (POIRIER et al., 2006). Alle Hunde hatten einen Grad II-MCT, der inkomplett entfernt wurde. Mit einer Cobalt-60 Einheit wurde jedem Patienten über einen Zeitraum von 19 Tagen eine Totaldosis von 48 Gy zu je 3,2 Gy in 15 Fraktionen verabreicht (Montag bis Freitag). Die beiden Protokolle haben sich nur in der prophylaktischen Bestrahlung des regionären LK bei einer Gruppe (n = 24) unterschieden. Nach Beendigung der Therapie wurden die Tiere in regelmäßigen Abständen untersucht. Akute und späte Nebenwirkungen wurden anhand der Kriterien der VRTOG (Veterinary Radiation Therapy Oncology Group) bewertet (LADUE & KLEIN, 2001). Auch in dieser Studie stellte sich heraus, dass die

RTH sehr gut für die lokale Kontrolle von Grad II-MCT geeignet ist. Die drei Jahre local-recurrence-free-survival-rate lag bei 94 % und die drei Jahre overall-survival-rate bei 97,6 %. Beim Vergleich der beiden Gruppen fiel auf, dass durch die zusätzliche Lymphknotenbestrahlung kein signifikanter Unterschied in disease-free-survival-rate, time to local recurrence oder overall-survival-rate festgestellt werden konnte. Da es in 6,7 % der Studienteilnehmer in weniger als sieben Monaten nach der RTH schon zu einem lokalen Rezidiv kam, empfehlen die Autoren eine Bestrahlung mit nicht weniger als 48 Gy. Ein weiteres Ergebnis war die Tatsache, dass durch die kurze Therapiephase von 19 Tagen mit einer Dosis von 48 Gy vergleichbare Ergebnisse erzielt werden konnten wie in der Studie von Al-Sarraf et al. mit 54 Gy über 42 Tage.

Im Jahr 2012 haben Carlsten et al. eine Kombination aus Bestrahlung, TKI und Prednisolon bei MCT des Hundes untersucht. Das Behandlungsprotokoll bestand aus der Gabe von Omeprazol, Diphenhydramine, Toceranib (über einen Zeitraum von 16 Wochen / Mo-Mi-Fr), Prednisolon im Wechsel mit Toceranib und einer RTH mit insgesamt 24 Gy. Die Bestrahlung startete sieben Tage nach Beginn der Toceranibtherapie, um eine gute Verträglichkeit des TKI und hohe Plasmakonzentrationen zu erreichen. Die Totaldosis wurde entweder in drei Fraktionen zu je 8 Gy oder in vier Fraktionen zu 6 Gy, immer 6 – 8 Stunden nach Toceranib, verabreicht. Akute Strahlennebenreaktionen wurden mit den VRTOG-Kriterien (LADUE & KLEIN, 2001) ausgewertet und waren hier nur minimal. Durch den Einsatz von Toceranib kam es vor allem zu gastrointestinalen Nebenwirkungen (NW), die durch eine kurze Therapiepause wieder ausgeheilt sind. Generell wurde dieses Protokoll gut vertragen und es konnte eine overall-response-rate von 76 % erreicht werden. 58,8 % reagierten mit einer complete response und 17,6 % mit einer partial response. Das median progression free interval lag bei 316 Tagen. So konnte neben der guten Verträglichkeit des Protokolls auch ein gutes Ansprechen bei der Mehrzahl der Studienteilnehmer nachgewiesen werden (CARLSTEN et al., 2012).

Um eine genau Aussage über die Effektivität einer zusätzlichen lokalen Therapie nach inkompletter Entfernung eines MCT treffen zu können, haben Kry et al. in drei verschiedenen Gruppen Überlebens- und lokale Rezidivrate bei insgesamt 70 MCT verglichen. Nach einer inkompletten Entfernung wurden die Hunde entweder mit einer zweiten OP oder einer RTH behandelt; als Kontrollgruppe gab

es auch Tiere ohne erneute lokale Therapie Die Bestrahlung wurde mit Cobalt-60-Photonen nach einem kurativen (17-24 Fraktionen zu je 2,5-3 Gy 5x pro Woche mit einer Totaldosis von 45-60 Gy) oder palliativen (12 Fraktionen zu je 4 Gy Mo-Mi-Fr mit einer Totaldosis von 48 Gy oder 4 Fraktionen zu je 8 Gy 1x pro Woche mit einer Totaldosis von 32 Gy) Protokoll durchgeführt. Wenn möglich, wurde mit einem Rand von 3 cm um die OP-Narbe geplant. Die MST lag in der Gruppe mit einer erneuten OP bei 2930 Tagen, in der RTH-Gruppe bei 2194 Tagen und in der Kontrollgruppe bei 710 Tagen. Beide Gruppen mit erneuter lokaler Therapie haben demnach signifikant länger überlebt als die Kontrollgruppe (Re-OP:  $P=0.012$  / RTH:  $P=0.016$ ). Zwischen den beiden Therapiegruppen gab es keinen signifikanten Unterschied in der Überlebenszeit. Auch im Hinblick auf die lokale Rezidivgefahr konnten die beiden Gruppen mit einer erneuten lokalen Therapie (Re-OP oder RTH) ein besseres Ergebnis erzielen als die Kontrollgruppe. Die Rezidivrate in der Gruppe mit einer erneuten OP lag bei 13 % und in der Gruppe mit RTH waren es 8 %. In der Kontrollgruppe hingegen kam es in 38 % der Fälle zu einem Rezidiv. In dieser Studie hatte die Lokalisation der Tumoren keine negative Auswirkung auf das lokale Rezidivrisiko und es konnte zudem kein Effekt auf das Überleben mit einer zusätzlichen Chemotherapie gezeigt werden. Die RTH wurde auch hier, mit den bekannten NW, generell gut vertragen und stellt daher mit der Möglichkeit einer erneuten Operation eine gute Möglichkeit dar, inkomplett resezierte MCT beim Hund lokal zu kontrollieren (KRY & BOSTON, 2014).

Eine Studie aus dem Jahr 2016 von Tollett et al. hat sich mit einem rein palliativen Ansatz der RTH bei soliden Tumoren des Hundes beschäftigt. Unter den 103 Fällen waren auch 8 Hunde mit MCT, 5 x Grad II und 3 x Grad III. Zeitgleich mit der RTH haben die Hunde Prednisolon, Famotidin und Diphenhydramine erhalten. Vier Patienten reagierten auf die Behandlung mit einer stable disease (SD) und bei den anderen vier Hunden kam es sogar zu einer progressive disease (PD) unter Therapie. Vermutlich durch den relativ hohen Anteil an Grad III-MCT konnte hier mit der palliativen RTH (4 x 8 Gy 1 x wöchentlich) nur eine MST von 71 Tagen erreicht werden (TOLLETT et al., 2016).

In den bisher genannten Studien wird die RTH bei MCT von Hunden sehr gut vertragen. Gerade bei der lokalen Langzeitkontrolle von gering bis mittelgradig

differenzierten Neoplasien der Mastzellen konnten gute Ergebnisse mit den unterschiedlichsten Protokollen erreicht werden. Ein ideales Bestrahlungsprotokoll für MCT des Hundes gibt es zurzeit in der Literatur nicht und hängt somit von den Erfahrungen des Radioonkologen ab. Den bisherigen Erfahrungen nach scheinen die Rezidivraten jedoch bei Bestrahlungen mit einer Gesamtdosis von weniger als 40 Gy höher zu sein (LADUE et al., 1998).

### **2.6.3. Chemotherapie**

Neben den beiden Optionen für eine lokale Therapie können MCT des Hundes auch chemotherapeutisch behandelt werden. Dies wird vor allem dann empfohlen, wenn es sich um MCT mit einem hohen Metastasierungsrisiko handelt (Grad III, II/III oder high-grade Tumoren) oder eine Metastasierung bereits stattgefunden hat. Über die Jahre wurden verschiedene Chemotherapeutika in unterschiedlichen Protokollen gegen MCT eingesetzt.

Aktuell wird den Patienten meist eine Kombinationstherapie aus Prednisolon und Vinblastin als first-line-Chemotherapie verabreicht. Die systemische Applikation von Kortikosteroiden wird schon lange vor der ersten Chemotherapie als wirksam angesehen (DOBSON et al., 2004) (STANCLIFT & GILSON, 2008).

Bei Vinblastin handelt es sich um ein Chemotherapeutikum aus der Gruppe der Vincaalkaloide. Eine der ersten Studien zum Einsatz dieser Kombinationstherapie stammt von Thamm et al. aus dem Jahr 1999 (THAMM et al., 1999). Hier wurden insgesamt 41 Hunde, mit oder ohne vorherige Therapie, behandelt. Die Startdosis von Prednisolon lag bei 2 mg/kg und die Kortisonbehandlung wurde über einen Zeitraum von 12 – 26 Wochen ausgeschlichen. Vinblastin wurde als intravenöse Infusion mit einer Dosis von 2 mg/m<sup>2</sup> anfangs einmal wöchentlich über einen Zeitraum von vier Wochen und dann einmal alle zwei Wochen weitere viermal appliziert, sodass die Hunde insgesamt achtmal Vinblastin erhalten haben. NW auf das Protokoll hatten 20 % der Tiere. Milde Nebenwirkungen wie selbstlimitierendes Erbrechen, Lethargie oder geringgradige Neutropenie wurden bei sechs Patienten festgestellt. Schwere NW der Chemotherapie, wie ausgeprägte Neutropenien oder starkes Erbrechen, zeigten zwei Hunde vor allem nach der ersten Therapie mit Vinblastin. Mit diesem Protokoll konnte eine overall-response-rate (ORR) von 47 % erreicht werden und die MST lag bei Grad II-Tumoren (18 Hunde) bei > 1302 Tagen und bei Grad III-Tumoren (23 Hunde) bei

331 Tagen. Des Weiteren lieferten die Daten aus dieser Studie erste Hinweise darauf, dass eine adjuvante Chemotherapie am besten direkt im Anschluss an die initiale Tumoresektion erfolgen sollte und es keinen Unterschied im Hinblick auf das Überleben macht, ob es sich bei dem MCT um eine einzelne Neoplasie oder multiple Tumoren handelt (THAMM et al., 1999).

Im Jahr 2004 haben Davies et al. das gleiche Chemotherapieprotokoll bei inkomplett entfernten MCT untersucht. In ihrer Studie unterteilten sie 20 Hunde in zwei Gruppen. In einer Gruppe waren alle Tiere, bei denen histologisch noch Tumorzellen nachgewiesen werden konnten ( $n = 15$ ), und in der anderen Gruppe waren Hunde ( $n = 5$ ), bei denen nur eine sehr knappe Entfernung des Tumors im Gesunden nachweisbar war. Wie in der vorherigen Studie wurde Prednisolon, oral mit einer Startdosis von 2 mg/kg, über zwölf Wochen ausgeschlichen und Vinblastin, als intravenöse Infusion mit 2 mg/m<sup>2</sup>, insgesamt achtmal gegeben. Vor jeder Chemotherapie wurden die Patienten klinisch allgemein untersucht und der OP-Bereich und die regionalen LK kontrolliert, zudem wurde immer vorher die Anzahl der Leukozyten bestimmt. Mögliche toxische NW wurden anhand der Kriterien der Eastern Cooperative Oncology Group bewertet. Bei 13 % der Vinblastindosen traten in dieser Studie NW auf, wobei nur bei einem Hund ein Klinikaufenthalt nötig war. Aufgrund einer Neutropenie konnten 5 % der Dosen erst mit einer Verzögerung von fünf bis acht Tagen verabreicht werden. Von den behandelten Tieren waren 70 % am Ende der Studie in einer kompletten Remission und eine lokale Kontrolle wurde bei 90 % der Patienten erreicht (DAVIES et al., 2004). Das Protokoll wurde sehr gut vertragen, nur konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen dieser Studie gezeigt werden. Auch die erneute Entwicklung von MCT an anderen Körperstellen konnte durch das Protokoll mit Vinblastin-Prednisolon nicht verhindert werden (DAVIES et al., 2004).

Thamm et al. haben sich 2006 nochmals mit dem Kombinationsprotokoll beschäftigt und es in ihrer Studie nur bei MCT mit einem hohen Metastasierungsrisiko eingesetzt. Bei insgesamt 61 Hunden wurde hier das oben beschriebene Protokoll angewendet und bei 26 % wurden NW verzeichnet. Die meisten davon waren in ihrer Ausprägung mild. Bei 6,5 % der Patienten kam es zu einer starken Neutropenie, die einen Klinikaufenthalt oder eine Therapiepause erforderlich machte. Am häufigsten wurden NW nach der ersten Therapie mit

Vinblastin verzeichnet. Auch in dieser Studie wurde die Therapie gut vertragen und es konnten deutlich längere krankheitsfreie Zeiten (DFIs) und Überlebenszeiten durch die Chemotherapie erreicht werden. Das DFI lag bei 1305 Tagen. Bei den Tumoren von Grad II waren 100 % der Patienten nach drei Jahren noch am Leben und bei Grad III-Tumoren lag die Überlebenszeit bei 1374 Tagen (THAMM et al., 2006).

Im Jahr 2007 haben Hayes und Kollegen mit ihrer Kombination aus Vinblastin und Prednisolon 70 % beim 1- und 2-Jahr disease-free-survival bei Grad III-MCT nach OP erreichen können (HAYES et al., 2007).

Eine weitere Studie aus dem Jahr 2008 hat sich ebenfalls mit dem Einsatz einer adjuvanten Chemotherapie bei MTC Grad II und III beschäftigt (WEBSTER et al., 2008). Webster und Kollegen hatten in ihrer Studie auch eine Vergleichsgruppe, die nur chirurgisch versorgt wurde. Diese Studie ist damit die erste, die diese beiden Therapieformen direkt miteinander vergleicht. Es wurden insgesamt 28 Hunde (18x Grad II und 10x Grad III) postoperativ mit einer Chemotherapie aus Vinblastin und Prednisolon behandelt. Hunde mit einem Grad III-MCT, die nur chirurgisch versorgt wurden, hatten signifikant kürzere DFI und OS als Hunde, die mit Vinblastin und Prednisolon behandelt wurden (DFI: ohne 1 Monat und mit 7 Monate / OS: ohne 1 Monate und mit 9,2 Monate). Zudem zeigten die Ergebnisse auch einen positiven Effekt der Chemotherapie auf DFI und OS bei Tumoren mit einer c-KIT-Mutation im Vergleich zu Hunden, die nur operiert wurden (WEBSTER et al., 2008).

Camps-Palau et al. haben 2007 ein erweitertes Protokoll mit Vinblastin, Prednisolon und Cyclophosphamid bei 35 Hunden in zwei Gruppen getestet. In Gruppe 1 hatten elf Hunde einen messbaren Tumor und in Gruppe 2 waren 24 Hunde mit inkomplett entfernten MCT. Die mediane PFST war in Gruppe 1 74 Tage und in Gruppe 2 865 Tage. Die MST lag bei 145 Tagen (Gruppe 1) und mehr als 2092 Tagen (Gruppe 2). Toxische NW waren selten und selbstlimitierend. Auch dieses Protokoll stellt eine Alternative für die Behandlung dar (CAMPS-PALAU et al., 2007).

Erste positive Erfahrungen zum alleinigen Einsatz von Kortikosteroiden bei MCT des Hundes stammen aus den Jahren 1952 - 1953 (ASBOE-HANSEN, 1952) (BLOOM, 1952) (BRODEY et al., 1953). 1994 haben McCaw et al. die

Monotherapie von MCT des Hundes mit Prednisolon untersucht. In dieser Studie wurden 25 Hunde täglich mit Prednisolon (1 mg/kg) über einen Zeitraum von 28 Tagen behandelt. Bei 5 Hunden konnte durch die Behandlung die Tumorgroße verkleinert werden und eine effektive Wirkung von Prednisolon bei einigen MCT gezeigt werden (MCCAW et al., 1994). Den Effekt von Glukokortikoiden auf MCT des Hundes haben Takahashi et al. 1997 untersucht und konnten nachweisen, dass kutane MCT des Hundes auf eine Therapie mit Kortison ansprechen. In diesen Zellen wurden spezifische zytoplasmatische Rezeptoren für Glukokortikoide nachgewiesen. In vitro und in vivo konnte so das Wachstum von gut bis mittelgradig differenzierten MCT gehemmt werden. Bei schlecht differenzierten MCT scheinen die Zellen diese Rezeptoren zu verlieren, bzw. nur aus resistenten Zellklonen zu bestehen. In einer zweiten Gruppe von intestinalen MCT konnte eine Wirkung von Glukokortikoiden nicht nachgewiesen werden, obwohl sie auch mit den gleichen Rezeptoren ausgestattet sind (TAKAHASHI et al., 1997).

Als neoadjuvante Therapieoption wurde der Einsatz von Prednisolon 2008 von Stanclift & Gilson untersucht. Aus 49 Hunden mit einem initial nicht operablen MCT wurden zwei Therapiegruppen gebildet. Die erste Gruppe wurde mit 1 mg/kg behandelt und die andere mit 2,2 mg/kg. Die objective response rate (ORR) lag in dieser Studie bei 70 %, wobei die Dosierung keinen Einfluss auf das Ansprechen hatte. Es kam in beiden Gruppen zu einer signifikanten Verkleinerung des Tumordurchmessers und auch das Tumolvolumen wurde deutlich reduziert. Im Anschluss an die Therapie wurden die Patienten operiert. Kein Hund hatte postoperative Komplikationen durch die Kortisontherapie und bei 89 % der Tiere konnten tumorzellfreie OP-Ränder erreicht werden (STANCLIFT & GILSON, 2008).

Das Ansprechen von MCT auf Kortikosteroide hängt einer Studie von Matsuda und Kollegen jedoch von der Expression eines Glukokortikoidrezeptors ab. In ihrer Studie aus dem Jahr 2011 zeigten die Hunde, deren MCT diesen Rezeptor nicht oder nur sehr gering exprimiert, kein Ansprechen auf eine Therapie mit Prednisolon (MATSUDA et al., 2011).

Ein weiteres Protokoll bei inoperablen MCT stammt aus 2009 von Taylor et al. (TAYLOR et al., 2009). Hier wurden die Hunde oral mit Prednisolon (14 Tage 40 mg/m<sup>2</sup>, dann 20 mg/m<sup>2</sup> jeden zweiten Tag) und Chlorambucil (5 mg/m<sup>2</sup> jeden

zweiten Tag) für mind. 6 Monate behandelt. Von den 21 Hunden hatten 13 einen mittelgradig-differenzierten Tumor und sechs einen schlecht differenzierten Tumor. Es wurde bei dieser Studie eine ORR von 38 % erreicht, mit drei kompletten Remissionen (CR), fünf partiellen Remissionen (PR), 9x stable Disease (SD) und vier progressiven Tumoren. Das mediane PFI lag bei 533 Tagen und eine MST von 140 Tagen wurde so erreicht. Die Vorteile dieses Protokolls sind, dass bei keinem Patienten NW durch die Chemotherapie aufgetreten sind und dem Tier alle Medikamente oral verabreicht werden können.

1997 haben McCaw et al. die alleinige Therapie mit Vincristin untersucht. 27 Hunde sollten insgesamt 4x Vincristin (1x pro Woche) mit einer Dosis von  $0,75 \text{ mg/m}^2$  erhalten. Bei 32 % der Teilnehmer musste das Protokoll aber aufgrund von zu starken NW abgebrochen werden und nur 2 % der Hunde reagierten mit einer PR (MCCAW et al., 1997). Eine Monotherapie mit Vincristin wird daher als unwirksam erachtet.

Ein Jahr später haben Gerritsen et al. erste Polychemotherapien bei MCT untersucht (GERRITSEN et al., 1998). Teil dieser Studie war eine Kombination aus Vincristin-Cyclophosphamid-Hydroxyurea-Prednisolon (VCHP) und Doxorubicin-Prednisolon. Von insgesamt 17 Hunden haben zehn Tiere auf eine oder auch beide Therapien angesprochen (4xCR und 6xPR). Tiere, die auf die Chemotherapie angesprochen haben, hatten MST von 97 Tagen, im Vergleich zu median 39 Tagen bei Nicht-Ansprechen. Aufgrund dieser Ergebnisse konnte die Wirksamkeit einer Multichemotherapie gezeigt werden, jedoch war die Effektivität sehr unterschiedlich und viele Hunde hatten eine Kombination aus allen Medikamenten (GERRITSEN et al., 1998).

Die Effektivität und Toxizität von Lomustin als Therapeutikum bei MCT des Hundes wurden als erstes von Rassnick et al. 1999 untersucht. In dieser Studie wurden 19 Hunde mit einem messbaren MCT mit Lomustin behandelt. Mit einer Dosis von  $90 \text{ mg/m}^2$  oral, alle drei Wochen, konnte bei einem Hund eine CR erreicht werden. Sieben Hunde reagierten mit einer PR und sechs waren zu Studienende in einer SD. Somit haben 42 % der Studienteilnehmer mit einer messbaren Reaktion auf die Therapie reagiert (RASSNICK et al., 1999). Die Hunde wurden 7 und 21 Tage nach jeder Lomustingabe untersucht und dabei zeigte sich, dass 7 Tage nach Therapie 41 % (7 Hunde) eine Neutropenie von Grad 3 oder 4 hatten. Vier Patienten zeigten auch Fieber und gastrointestinale



Symptome. Unter Antibiose und zusätzlich unterstützender Therapie erholten sich alle Patienten wieder. Im Ergebnis war die Ansprechrate dieser Studie vielversprechend und die NW, v. a. Neutropenie, in einem vertretbaren Rahmen (RASSNICK et al., 1999).

Auch bei nicht-resezierbaren MCT wurde die Effektivität einer Chemotherapie untersucht. Burton et al. haben bei dieser Art von MCT 2015 mit einer Kombination aus Toceranib und Lomustin gearbeitet (BURTON et al., 2015). Toceranib (2,75 mg/kg p. o.) wurde alle zwei Tage im Wechsel mit Prednisolon über einen Zeitraum von 21 Tagen gegeben. Lomustin ( $50 \text{ mg/m}^2$ ) wurde innerhalb dieses Zyklus an Tag 3 gegeben. Teil der Studie war es auch, die maximal verträgliche Dosis von Lomustin festzulegen. Bei der Dosisescalation auf  $60 \text{ mg/m}^2$  reagierten beide Hunde mit einer Neutropenie Grad 4 und auch bei  $55 \text{ mg/m}^2$  kam es bei zwei von drei Tieren ebenfalls zu einer Grad 4-Neutropenie. Insgesamt wurden 41 Hunde mit einer mittleren Dosis von  $47,6 \text{ mg/m}^2$  Lomustin und 2,65 mg/kg Toceranib behandelt. Bei den NW dieser Therapie waren hämatologische (82,9 %) und hepatotoxische (59 %) Reaktionen die beiden häufigsten Probleme und beide zogen eine Dosisreduktion bei zu starker Ausprägung nach sich. Mit dieser Kombination aus Toceranib und Lomustin konnten in der Studie ORR von 46 % (4xCR und 15xPR) und median PFS von 53 Tagen erreicht werden und sie wurde gut vertragen. Für nicht operable MCT ist diese Therapie eine Option und pulse-administration von Toceranib zeigte deutlich weniger GIT-Nebenwirkungen als erwartet (BURTON et al., 2015).

Aus der Gruppe der Vincalkaloide wird, neben Vinblastin, auch der Wirkstoff Vinorelbine erfolgreich bei Krebserkrankungen eingesetzt, und in ersten Studien aus der Humanmedizin wurde sogar eine bessere Wirksamkeit durch eine höhere intratumorale Akkumulation als von Vinblastin gezeigt (BURRIS & FIELDS, 1994) (KRIKORIAN et al., 1989). In einer ersten Phase I-Studie wurde Vinorelbine in der Veterinärmedizin von Poirier et al. bei verschiedenen Tumoren eingesetzt (POIRIER et al., 2004). Speziell gegen MCT des Hundes haben Grant et al. im Jahr 2008 Vinorelbine in einer klinischen Phase II-Studie eingesetzt (GRANT et al., 2008). Insgesamt wurden 24 Hunde mit einem MCT einmalig mit dem Medikament bei einer Dosierung von  $15 \text{ mg/m}^2$  behandelt. Die Tumorausmaße und eine Blutuntersuchung wurden vor und 7 Tage nach Behandlung analysiert. Bei 13 % der Patienten konnte ein Ansprechen auf die

Behandlung gezeigt werden. Bei der Blutuntersuchung zeigte sich jedoch bei 54 % eine deutliche Neutropenie und auch gastrointestinale NW waren in 46 % der Fälle zu verzeichnen. Durch den Einsatz von Antibiotika wurde die einmalige Therapie aber gut vertragen (GRANT et al., 2008). Im Jahr 2015 wurde eine Studie zum Thema Vinorelbine bei verschiedenen malignen Tumoren des Hundes von Wouda et al. veröffentlicht (WOUDA et al., 2015). Unter den insgesamt 58 Fällen aus den Jahren 1997 bis 2012 befanden sich in dieser Arbeit fünf Hunde mit MCT. Anhand histologischer Kriterien und des biologischen Verhaltens wurden alle Tumoren als high-grade Tumoren eingestuft und in vier Fällen waren auch die regionären LK betroffen. Im Gegensatz zur Studie von Grant et al. wurden die Neoplasien hier alle mit verschiedenen Chemotherapieprotokollen vorbehandelt. Von einer Dosis bis hin zu acht Dosen Vinorelbine wurden die Tumoren unterschiedlich behandelt. Der Hund mit acht Dosen Vinorelbine hatte eine SD für eine Dauer von 87 Tagen. Wouda et al. konnten trotz der nur sehr geringen Fallzahlen mit MCT eine Ansprechrate von 20 % in ihrer Studie nachweisen und schlagen Vinorelbine als Rescuetherapie für Fälle vor, die nicht auf die übliche First-line-Therapie ansprechen. Starke NW bei der Therapie mit diesem Chemotherapeutikum traten nicht auf und so sprechen sich die Autoren für eine Startdosis bei Vinorelbine von  $15 \text{ mg/m}^2$  aus (WOUDA et al., 2015).

#### **2.6.4. Tyrosinkinaseinhibitoren**

Eine weitere Option für die systemische Therapie von MCT ist der Einsatz von TKI. Sie blockieren die Bindungsstelle für Tyrosinkinasenrezeptoren. Diese Kinasen spielen als Rezeptoren auf der Zelloberfläche eine wichtige Rolle bei der Proliferation und Differenzierung von Zellen. Sie sind aber auch bei der Angiogenese und Metastasierung von Tumoren von zentraler Bedeutung. Beispiele für Tyrosinkinaserezeptoren sind KIT, PDGFR (platelet-derived growth factor receptor) und VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor). Zurzeit sind in der Veterinärmedizin 2 TKIs zugelassen, Toceranib und Masitinib, und beide konnten ihre Effektivität beim Hund in verschiedenen klinischen Studien zeigen (HAHN et al., 2008) (LONDON et al., 2009) (HAHN et al., 2010).

In einer Placebo-kontrollierten und doppelt-verblindeten, randomisierten Multicenter-Studie mit Toceranib von London et al. konnte eine ORR von 42,8 % (21xCR, 41xPR) mit dem Medikament bei Grad II- und Grad III-Tumoren

erreicht werden (LONDON et al., 2009). Die biologische Ansprechrate, bei der auch Hunde mit einer SD von mehr als 10 Wochen eingeschlossen sind, lag bei 59 %. Die mittlere objektive Response-Dauer und die Zeit bis Tumorprogression waren 12 und 18,1 Wochen. Hunde mit einer Mutation des c-KIT-Gens zeigten dabei eine fast doppelte so hohe Wahrscheinlichkeit für ein Ansprechen auf Toceranib als Patienten mit dem c-KIT-Wildtyp (69 % gegen 37 %). Neben c-KIT inhibiert Toceranib auch VEGFR2 (vascular endothelial growth factor receptor 2) und PDGFR, die bei der Angiogenese und Metastasierung eine Rolle spielen (PRYER et al., 2003) (LONDON et al., 2009). Die häufigsten NW von Palladia sind gastrointestinale Toxizitäten, wie z. B. Anorexie, Gewichtsverlust, Durchfall, Erbrechen, Meläna, leichte bis mittelgradige Leukopenien und vereinzelt Muskelschmerzen (LONDON et al., 2009) (BERNABE et al., 2013). Die beschriebenen Nebenwirkungen sind mit symptomatischer Therapie, drug holiday oder einer Dosisreduktion in den Studien gut kontrollierbar gewesen. Aktuell wird bei Toceranib eine Dosierung von 2,5 bis 2,75 mg/kg jeden zweiten Tag oder 3x die Woche (Montag, Mittwoch, Freitag) empfohlen (CARLSTEN et al., 2012) (LONDON et al., 2012) (BERNABE et al., 2013). In den letzten Jahren werden in Studien auch immer wieder unterschiedliche Kombinationstherapien mit Toceranib für unterschiedliche Tumorarten untersucht (CHON et al., 2012) (DEVOS et al., 2012) (LONDON et al., 2015) (PAN et al., 2016).

Eine Studie zum Einsatz von Masitinib wurde von Hahn und Kollegen veröffentlicht (HAHN et al., 2008). Die Patienten zeigten eine signifikant bessere Progressions-freie Zeit (time to Progression) als Tiere in der Placebogruppe. Auch in dieser Arbeit zeigte das Medikament bei Hunden mit einer c-KIT-Mutation ein besseres Outcome. Bei einer Langzeitstudie konnte mit dem Einsatz von Masitinib die Überlebensrate nach 24 Monaten, im Vergleich zur Placebogruppe, deutlich verbessert werden (40 % vs. 15 %) (HAHN et al., 2010). Smrkovski und Kollegen hatten Masitinib als Rescue-Protokoll bei 12 Hunden im Einsatz, die nicht auf eine Chemotherapie angesprochen haben, und konnten hier eine ORR von 25 % erreichen (SMRKOVSKI et al., 2015). Durch Masitinib wird neben c-KIT auch PDGFR und FGFR3 (fibroblast growth factor receptor 3) inhibiert (DUBREUIL et al., 2009) (MARECH et al., 2014). NW von Masitinib waren Durchfall, Erbrechen, Ödeme, Neutropenien sowie Nephropathien (Proteinverlust) und hämolytische Anämie (HAHN et al., 2008). Wie bei

Toceranib so sind auch hier die Auswirkungen normalerweise geringgradig und ebenfalls durch die oben genannten Therapieoptionen schnell in den Griff zu bekommen. Die Dosierung von Masitinib liegt bei täglich 12,5 mg/kg (HAHN et al., 2008).

Neben Toceranib und Masitinib gibt es aus der Humanmedizin noch das Medikament Imatinib, welches als erster TKI in der Humanmedizin zugelassen war. Auch hierfür gibt es in der Veterinärmedizin Studien zum Einsatz bei MCT des Hundes, in denen es gut vertragen wurde, und eine Wirkung konnte sowohl in Fällen mit einer c-KIT-Mutation als auch in Wildtypformen von c-KIT erreicht werden (ISOTANI et al., 2008) (MARCONATO et al., 2008) (YAMADA et al., 2011) (KOBAYASHI et al., 2012).

Für Sunitinib, einen weiteren Kinaseinhibitor, der eng mit Toceranib verwandt ist, gibt es in der veterinärmedizinischen Literatur noch keine Erfahrungsberichte.

Ein großer Vorteil für den klinischen Einsatz der TKI ist ihre Verabreichungsform. TKI können den Patienten in Form von Tabletten oral verabreicht werden und es ist keine aufwendige und zeitintensive intravenöse Applikation nötig.

Aus dem Jahr 2012 gibt es eine Studie von Robat et al., in der Vinblastin und Toceranib kombiniert wurden. Dabei zeigte sich eine maximal verträgliche Dosis bei Vinblastin von 1,6 mg/m<sup>2</sup> jede zweite Woche und bei Toceranib von 3,25 mg/kg jeden zweiten Tag (ROBAT et al., 2012). Die dosislimitierende Toxizität war Neutropenie, aufgrund einer additiven Myelosuppression beider Medikamente. Im Vergleich zur Monotherapie mit Vinblastin stellt dieses Protokoll eine 50-prozentige Dosisreduktion dar. Auf der anderen Seite konnte hier eine ORR von 71 % erreicht werden, was dieses Modell für zukünftige Studien interessant machen dürfte. In einer anderen Studie von Mitchell et al. aus demselben Jahr wurde Toceranib mit einer metronomischen Therapie mit Cyclophosphamid kombiniert und es konnte ein immunmodulatorischer Effekt von Toceranib nachgewiesen werden (Serumspiegel von Interferon gamma steigt deutlich nach Toceranibgabe) (MITCHELL et al., 2012). Im Jahr 2015 haben Burton et al. Toceranib gemeinsam mit Lomustin gegen inoperable MCT des Hundes eingesetzt und konnten eine Ansprechrates von 45 % mit ihrem Protokoll erreichen (BURTON et al., 2015).

In nicht resezierbaren MCT haben Carlsten et al. Toceranib mit einer hypofraktionierten Bestrahlung kombiniert. Der TKI wurde eine Woche vor der RTH gestartet und die Totaldosis lag bei 24 Gy (in 3 bis 4 Fraktionen). Die ORR lag in dieser Studie bei 76,4 % (58,8 % CR und 17,6 % PR). Das median progression free interval lag bei 316 Tagen. NW dieses Protokolls traten v. a. im Magen-Darm-Trakt und der Leber auf, waren aber im Allgemeinen gut verträglich. Da es in den meisten Hunden einen positiven Effekt hatte, kann dieses Modell eine Alternative für nicht-resezierbare MCT sein (CARLSTEN et al., 2012).

Trotz der vielen Studienergebnisse und der zahlreichen Kombinationsmöglichkeiten wird derzeit eine first-line-Therapie mit TKI bei MCT des Hundes nicht empfohlen (BLACKWOOD et al., 2012). Es gilt auch zu beachten, dass sich nach einem sehr guten anfänglichen Ansprechen auf die Therapie mit TKI oft Resistenzen bei einer Langzeitbehandlung entwickelt haben (LONDON, 2013). In einer Studie aus dem Jahr 2014 wurden in Toceranib-resistenten Tumorzelllinien sekundäre c-KIT-Mutationen und eine Überexpressierung von c-KIT festgestellt (HALSEY et al., 2014).

#### **2.6.5. Andere Therapieoptionen**

Neben den bereits erwähnten Therapiemöglichkeiten gibt es auch einige weitere Ansätze für die Behandlung von MCT des Hundes.

In verschiedenen Studien wurden Kortikosteroide intraläsional bei nicht operablen MCT oder Neoplasien, die auf andere Behandlungen nicht angesprochen haben, versucht (MACY, 1986) (ROGERS, 1996). Diese Therapieoption wurde aber nie in Studie mit einer systemischen Therapie verglichen.

In Einzelfällen wurde eine Immuntherapie bei MCT des Hundes bereits versucht. Eine größere Studie zu diesem Thema stammt von Henry et al. aus dem Jahr 2007. Dabei wurde für die Hunde eine Mischung aus human chorionic gonadotropin (HCG) und Bacillus Calmette-Guerin (BCG) verwendet. Erste Ansprechraten lagen im Bereich der Quote einer Therapie mit Vinblastin. Leider haben die meisten Patienten dieser Studie aber nicht das komplette Protokoll über sechs Wochen durchgemacht (HENRY et al., 2007).

Deionisiertes Wasser intraregional wurde im Anschluss an eine inkomplette Entfernung eines MCT empfohlen, obwohl nicht alle Studien eine Effektivität

nachweisen konnten (GRIER et al., 1995) (GRIER & DI GUARDO, 2000) (JAFJE et al., 2000) (NEYENS et al., 2004). Eine neuere Studie aus dem Jahr 2008 von Brocks et al. konnte jedoch keinen Effekt für die lokale Rezidivgefahr oder die Überlebenszeit nachweisen (BROCKS et al., 2008).

In den 1980er Jahren wurde eine Kombination aus Hyperthermie und Bestrahlung in zwei Studien untersucht. Bei der Hyperthermie wird das Tumorgewebe lokal auf eine Temperatur von 40 – 45 Grad erhitzt. Es konnte jedoch kein Vorteil im Vergleich zu einer alleinigen Bestrahlung gezeigt werden (THRALL & DEWHIRST, 1985) (LEGORRETA et al., 1988).

Bei der photodynamischen Therapie wird der Tumor lokal mit einer bestimmten Wellenlänge behandelt und so werden direkt intratumoral, systemisch applizierte Medikamente aktiviert. Diese Behandlung erhöht aber die Gefahr einer Degranulation der Mastzellen und daher sollte die photodynamische Therapie nur eine Option für kleine, oberflächliche Läsionen sein (FRIMBERGER et al., 1998) (TANABE et al., 2004).

Auch die Kryochirurgie kann zur Degranulation von Mastzellen führen und ist daher ebenfalls nur für die Entfernung kleiner Tumoren in Erwägung zu ziehen. In Studien wurde sie v. a. bei MCT, die kleiner als 1 cm waren, eingesetzt (KRAHWINKEL, 1980) (ROBERTS et al., 1986) (LONDON & THAMM, 2013).

Bei der Elektrochemotherapie (ECT) handelt es sich um eine relativ neue Therapieoption in der Onkologie, welche die lokale Anwendung eines Chemotherapeutikums (Bleomycin oder Cisplatin) mit der Applikation elektrischer Impulse kombiniert. Durch die lokale Einwirkung kurzer, intensiver elektrischer Stoßwellen auf die Zellen bzw. das Tumorgewebe werden die Zellmembranen durchlässiger und das Medikament kann besser aufgenommen werden (CEMAZAR et al., 2016). Im Jahr 2006 haben Spugnini und Kollegen zum ersten Mal eine adjuvante Elektrochemotherapie mit Bleomycin bei inkomplett entfernten MCT bei insgesamt 28 Hunden eingesetzt (SPUGNINI et al., 2006). Bei 85 % der Patienten konnte eine lokale Kontrolle ohne jegliche Art von NW erreicht werden. Um lokale oder systemische Komplikationen auszuschließen, wurde in dieser Studie aber kein MCT größer als 1 cm behandelt. Nach diesen ersten vielversprechenden Ergebnissen haben 2009 Kodre et al. die ECT mit der operativen Versorgung von MCT des Hundes verglichen (KODRE et

al., 2009). In dieser Studie nahmen 25 Hunde teil, die in zwei Gruppen (OP und ECT) eingeteilt wurden. 16 Hunde wurden operativ versorgt, und bei 9 Hunden wurde der Tumor mit einer ECT mit Cisplatin behandelt. Bei 62,5 % der Tiere in der ECT-Gruppe konnte eine CR nach vier bis fünf Wochen erreicht werden und die Zeit der lokalen Tumorkontrolle war größer als in der OP-Gruppe. Sowohl die elektrischen Impulse als auch Cisplatin wurden in dieser Studie ohne NW gut vertragen. Es konnte keine Degranulation von Tumorzellen infolge der ECT verzeichnet werden (KODRE et al., 2009). 2011 haben Spugnini und Kollegen eine ECT mit Cisplatin bei inkomplett entfernten MCT bei 37 Hunden untersucht. Über einen Zeitraum von 6 Jahren kam es bei 29 Hunden zu keinem Rezidiv und auch in dieser Studie wurde die ECT gut vertragen (SPUGNINI et al., 2011). Trotz der allgemein guten Verträglichkeit und den positiven Ergebnissen der Studien bestehen Sicherheitsbedenken bei dieser Therapieform, sodass sie zum jetzigen Zeitpunkt nicht routinemäßig empfohlen wird (BLACKWOOD et al., 2012).

#### **2.6.6. Unterstützende Therapie**

Bei der unterstützenden Therapie von MCT des Hundes geht es vor allem darum, den Effekten durch die Histaminfreisetzung entgegenzuwirken.

Für die Behandlung von Magenulzerationen werden H<sub>2</sub>-Antagonisten, wie z. B. Ranitidin (2 mg/kg, 2xtgl.), Cimetidin (4-5,5 mg/kg, 3xtgl.), Famotidin (0,5-1 mg/kg, 1-2xtgl.) oder Protonenpumpenhemmer (Omeprazol, 0,5-1 mg/kg, 1xtgl.) verabreicht.

Gegen die negativen Auswirkungen der Histaminfreisetzung auf die Wundheilung und die peripheren Gefäße können H<sub>1</sub>-Blocker, Diphenhydramine (2-4 mg/kg, 2xtgl.) oder Chlorpheniramine (0,22-0,5 mg/kg, 3xtgl.) eingesetzt werden.

Bei Hunden mit Magen- oder Duodenalulzera empfiehlt sich zudem der Einsatz von Sucralfat (0,5-1 g p. o., 3xtgl.) und Misoprostol (2-4 µg/kg p. o., 3xtgl.).

Generell ist eine unterstützende Therapie bei Patienten mit gastrointestinalen Symptomen wichtig, da in diesen Fällen von einer Degranulation ausgegangen werden muss (LONDON & THAMM, 2013).

### 2.6.7. Ausblick in die Zukunft

In Zukunft könnten auch andere Ansätze bei der Therapie von MCT eine Rolle spielen:

- onkolytisches Reovirus: Eine neue Entwicklung, die sich in der Humanmedizin bereits in verschiedenen klinischen Studien der Phase II und III befinden, ist der Einsatz von Viren zur Krebstherapie. Neben Adenoviren, Herpesviren und Rhabdoviren kommen hierbei auch Reoviren zum Einsatz. In einer der ersten Studien zum Thema onkolytische Reoviren in der Veterinärmedizin haben Hwang et al. 2013 diese Viren bei MCT des Hundes untersucht (HWANG et al., 2013). Die Gruppe hat die onkolytische Wirkung der Reoviren in vitro, in vivo und ex vivo bei caninen MCT untersucht und konnte in den Zelllinien eine hohe Empfindlichkeit für das Virus nachweisen. Durch die Reoviren kam es zur Virusreplikation und zur Induktion des Zelltodes (HWANG et al., 2013). Somit könnten in Zukunft möglicherweise auch onkolytische Viren bei der Therapie von MCT zum Einsatz kommen. Aktuell ist der Einsatz in der Veterinärmedizin jedoch noch weit von einer praktischen Umsetzung entfernt.
- Histone-deacetylase inhibitors: Bei verschiedenen Tumorzelllinien konnten mit diesen Inhibitoren schon erste Erfolge in vitro erzielt werden (KISSEBERTH et al., 2008) (LIN et al., 2010) (NAGAMINE et al., 2011).
- Hitzeschockproteine-Inhibitor (HSP-90): Dieser neue Inhibitor wurde erfolgreich gegen maligne Mastzelllinie mit Wildtyp und mutierten KIT eingesetzt (LIN et al., 2008). Auch bei Tieren, in einer klinischen Phase I-Studie, wurde dieses Medikament schon gegen Spontantumoren eingesetzt (LONDON et al., 2011).
- Retinoide: Pinello et al. testeten in ihrer Studie Retinsäure (ATRA) gegen Mastzelltumorzellen des Hundes und konnten damit ein Absterben der Zellen 24 bis 48 Stunden nach Behandlung zeigen (PINELLO et al., 2009). Ohashi und Kollegen konnten in ihrer Studie mit Retinoiden eine Wachstumshemmung und Apoptose in Mastzelltumorzelllinien herbeiführen (OHASHI et al., 2006). MCT scheinen im Vergleich zu anderen Tumoren sehr gut auf eine Therapie mit ATRA anzusprechen (MIYAJIMA et al., 2006).



- TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand als Mitglied der TNF-Familie scheint eine weitere neue Option in der Behandlung zu sein. Dieser Ligand induziert Apoptose in Zelllinien, die eine maligne Transformation durchlaufen haben (ELDERS et al., 2009).
- Polo-like kinase-1 inhibitors: Auf der Suche nach neuen Angriffspunkten für neue Medikamente wurde in der Studie von Peter und Mitarbeitern die Expression einer neuen Serin-Threonin-Kinase in neoplastischen Mastzellen untersucht (PETER et al., 2011). Diese Kinase konnte in Immunfärbungen in neoplastischen Zellen nachgewiesen werden und durch spezifische Inhibitoren konnten eine Wachstumshemmung und Apoptose gezeigt werden. Das in dieser Studie eingesetzte Medikament hatte dabei keine Wirkung auf normale Mastzelllinien.

### **III. MATERIAL UND METHODEN**

#### **1. Patientenaufkommen an der MTK**

Für einen Überblick über die Fallzahlen zwischen den Jahren 2006 bis 2015 wurden mit dem klinikinternen Verwaltungssystem Vetera® (G&P Software, Eltville, Deutschland), anhand verschiedener Suchbegriffe, passende Patientendaten herausgefiltert.

Mit Hilfe des folgenden „Such-Fahrplans“ wurde die Vetera®-Datenbank der Medizinischen Kleintierklinik der LMU (MTK) untersucht:

1. Suchbegriffe: „Mastzelltumor“ „Mastzeltumor“ „Mastzell“ „MCT“
2. Suchzeitraum: 01.01.2006 bis 15.10.2013 und 16.10.2013 bis 31.12.2015
3. Tierart: Hund

Durch ein Softwareupdate Mitte Oktober 2013 existieren an der MTK zwei verschiedene Vetera®-Datenbanken. Diese wurden beide mit den identischen Suchbegriffen nach passenden Patienten durchsucht. Das Diagnosefeld des Patientenverwaltungssystems wurde untersucht, sodass auch wirklich nur Hunde herausgefiltert wurden, die tatsächlich an einem MCT erkrankt sind bzw. aus diesem Grund vorstellig wurden.

Als Ergänzung zur elektronischen Patientensuche in Vetera® wurden ebenso die Caselogs der Residents der medizinischen Onkologie nach Treffern durchsucht. Diese waren jedoch deckungsgleich mit den Ergebnissen der elektronischen Suche.

Im Anschluss wurden die entsprechenden Patientenakten eingesehen, wobei versucht wurde, fehlende Daten durch archivierte Überweisungsschreiben, OP-Berichte oder histologische Ergebnisse zu ergänzen. Durch direkte telefonische Nachfrage bei den Patientenbesitzern oder Haustierärzten wurden Rezidivraten, Nebenwirkungen der Therapie und Überlebenszeiten erhoben, sofern nicht in Vetera® dokumentiert

Insgesamt konnten so bei der ersten Suche 231 Hunde mit der Diagnose MCT im oben angegebenen Zeitraum auffindig gemacht und ihre Krankengeschichte retrospektiv ausgewertet werden.

Für eine bessere Einschätzung des Patientenaufkommens, v. a. im Hinblick auf die Verteilung der Hunderassen, wurden über Vetera® alle Hunde herausgefiltert, die zwischen 2006 und 2015 in der MTK behandelt wurden. Dabei spielte der Grund der Vorstellung keine Rolle.

### **1.1. Einschlusskriterien**

Alle Hunde, die vom 01.01.2006 bis zum 31.12.2015 wegen eines MCT zur Diagnose, Beratung oder Therapie an der MTK der LMU vorstellig wurden, sind Teil dieser Studie.

Der erste Schritt war eine FNA des Tumors, und die histologische Untersuchung erfolgte nach chirurgischer Behandlung.

Bei Vorliegen eines MCT wurde den Patientenbesitzern ein komplettes Staging angeraten, um eine bestmögliche Beratung und Therapie des Tieres zu gewährleisten.

Vollständiges Staging eines MCT an der MTK:

- Röntgenbild des Thorax 3 Ebenen (l/l rechtsanliegend, v/d, l/l linksanliegend)
- Ultraschallabdomen
- FNA Leber und Milz
- Blutbild und Serumprofil
- Punktion der regionären Lymphknoten

Beratung und anschließende Therapieempfehlung erfolgten anhand der Ergebnisse des Stagings durch die Oberärzte oder Residents der onkologischen Abteilung der MTK.

### **1.2. Ausschlusskriterien**

Durch die detaillierte Suche in den elektronischen Datenbanken („alt“ und „neu“) wurden vorerst alle Hunde mit einem MCT in die Studie aufgenommen. Auch bei Patienten, die nur zur Beratung in der Klinik waren (z.T. auch Besitzer ohne Tier), wurde versucht, telefonisch Auskunft über den weiteren Verlauf der Erkrankung und die Überlebenszeit zu erhalten.

Durch die zeitliche Überschneidung der Datenbanken wurden mehrere Tiere doppelt aufgeführt und angegeben. Bei genauem Nachlesen der

Krankengeschichte jedes einzelnen Hundes musste daher die ursprüngliche Trefferzahl nach unten korrigiert werden.

Bei einigen Hunden wurden neben einem MCT auch verschiedene andere Neoplasien diagnostiziert (Schilddrüsenkarzinome, Mammakarzinome, Osteosarkome, Hämangiosarkome, Übergangszellkarzinome, Lymphome oder primäre Lungentumoren). In diesen Fällen wurden andere Therapieempfehlungen ausgesprochen und die Patienten für diese Studie ausgeschlossen.

Bei manchen Hunden wurde durch die Histologie das Vorliegen eines MCT nicht bestätigt, sodass auch diese Tiere letztlich nicht aufgenommen wurden. In zwei Fällen hatte sich in der wiederholten zytologischen Untersuchung der Verdacht auf einen MCT nicht bestätigt und diese Hunde sind ebenfalls nicht Teil der Studie.

Bei Hunden von Patientenbesitzern, die initial nur telefonisch beraten wurden und dann nicht mehr erreichbar waren oder wie in einem Fall direkt im Anschluss der Therapie nach Afrika gezogen sind, lagen nicht genug Daten für eine korrekte Bewertung vor, was somit ebenfalls zu einem Ausschluss führte.

### **1.3. Patientendaten**

Folgende Patienten- und Tumorparameter wurden erfasst:

Datum der Vorstellung in MTK, Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht, MCT-Art, Tumorlokalisation, Rezidiv, Tumorgröße, regionärer Lymphknoten vergrößert, Juckreiz/Entzündung, Durchfall, Erbrechen, histologischer Tumorgrad (nach Patnaik oder Kiupel), prognostische Faktoren (mitotischer Index/Ki-67), c-KIT-Status, Staging (Thoraxröntgen/Ultraschallabdomen), FNA (Leber/Milz/Lymphknoten), Metastasen, Blutbild, Blutchemie, OP-Rand-Status, Behandlungsgruppe, Nebenwirkungen von Chemotherapie oder Tyrosinkinaseinhibitoren oder Bestrahlung, Ansprechen auf Behandlung, DFI, Outcome, Todestag, Todesursache und die Überlebenszeit in Tagen (Datum der Vorstellung bis Todestag).

Das Alter der Hunde wurde in Jahren angegeben. Das Geschlecht wurde als weiblich, weiblich kastriert, männlich oder männlich kastriert notiert.

Das Gewicht wurde in kg auf eine Dezimalstelle genau angegeben.

Die Art des MCT wurde als kutan (kutan und subkutan), inguinal/perineal, multipel oder disseminiert angegeben. Wobei als multipel alle Hunde ab mehr als zwei zeitgleich auftretenden Tumoren zählten. Ebenfalls wurde notiert, ob es sich um einen Primärtumor oder ein Rezidiv handelte.

Lokalisiert waren die Tumoren an Kopf, Hals, Brustwand, Bauchwand, Vorderbein, Hinterbein, Pfote, Rute, Gesäuge und im inguinalen/perinealen Bereich. Multiple und disseminierte MCT waren ebenfalls zu verzeichnen.

Bei der Tumorgroße waren nicht bei allen Tieren Länge, Breite und Höhe der Neoplasie angeben, sodass jeweils nur das größte Maß für eine Einschätzung herangezogen wurde.

Bei der Erstvorstellung in der Abteilung Onkologie der MTK wurde palpatorisch der Zustand der regionären Lymphknoten erfasst.

Zur Beurteilung des Auftretens eines paraneoplastischen Syndroms wurde anamnestisch das Auftreten von Juckreiz oder eine entzündliche Reaktion im Bereich des Tumors erfasst. Des Weiteren wurde auch das Vorhandensein von Erbrechen zum Zeitpunkt der Erstvorstellung untersucht.

Bei der ersten Vorstellung des Patienten wurde ebenfalls eine Blutuntersuchung eingeleitet. Für die Referenzwerte siehe Tab. 4

**Tabelle 4: Referenzwerte der Blutergebnisse**

Test	Parameter	min.	max.	Einheit
Blutbild	WBC	5	16	$\times 10^9/l$
	RBC	5,5	9,3	$\times 10^{12}/l$
	HCT	0,35	0,58	l/l
	PLT	180	550	$\times 10^9/l$
	Neut	3	9	$\times 10^9/l$
	Eos	0,04	0,6	$\times 10^9/l$
Serum	HST	3,52	10,78	$\mu\text{mol/l}$
	Crea	44	125	$\mu\text{mol/l}$
	ALT	18	110	U/l
	AP	13	152	U/l

Mit der histologischen Untersuchung des kompletten Tumors oder einer Teilbiopsie wurden, je nach Möglichkeit und finanziellen Mitteln, der Patientenbesitzer, der Tumorgrad nach Patnaik oder Kiupel, der mitotische Index, Ki-67-Status und ein c-KIT-Status ermittelt.

Über ein komplettes Staging (Rx, Sono, FNA) wurde bei einigen Patienten

versucht, mögliche Metastasen des MCT zu finden, und im Rahmen der ersten Untersuchung wurde den Patienten Blut für eine hämatologische und klinisch-chemische Laboruntersuchung abgenommen.

Die Hunde wurden dann in verschiedene Behandlungsgruppen eingeteilt und das Ansprechen auf die Therapie und das Auftreten von Nebenwirkungen jeglicher Art ausgewertet. Die Nebenwirkungen von Chemotherapie und Strahlentherapie wurden anhand der Aufzeichnungen in Vetera® und der jeweiligen Blutuntersuchung mit den Kriterien der Veterinary cooperative oncology group (VCOG, 2016) bewertet und in verschiedene Stufen eingeteilt. Für die Beurteilung der Strahlennebenreaktion wurden gesonderte Kriterien herangezogen (LADUE & KLEIN, 2001).

Die krankheitsfreie Zeit (DFI), Outcome und Todestag und Todesursache waren entweder in Vetera® angegeben oder konnten telefonisch abgefragt werden. Die mediane Überlebenszeit (MST) errechnete sich in dieser Studie aus der Differenz zwischen dem Tag der Diagnose und dem Todestag. Sie wurde in Tagen angegeben. Die DFI wurde definiert als der Zeitraum zwischen kompletter Remission und der Diagnose eines Rezidivs.

#### **1.4. OP-Methoden**

Patienten, bei denen bereits vor der Operation die Verdachtsdiagnose MCT durch eine FNA ausgesprochen wurde und die Lokalisation des Tumors es zugelassen hat, wurden mit einem Rand von 3 cm in alle Richtungen und einer Faszien-schicht in die Tiefe operiert, um tumorzellfreie OP-Ränder erreichen zu können. In vielen Fällen war dies aufgrund der Vorgeschichte des Hundes nicht zu gewährleisten. Manche Patienten wurden von ihrem Haustierarzt operiert und erst dann stellte sich heraus, dass es sich um einen MCT handelt. Bei anderen war aufgrund der Lokalisation ein solch radikales Vorgehen nicht möglich.

Die Operation erfolgte je nach Vorgeschichte oder Wohnort des Besitzers bei den jeweiligen Haustierärzten oder in der Chirurgischen und gynäkologischen Kleintierklinik der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität (Direktor: Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg).

### 1.5. RTH-Protokolle

In enger Absprache mit der Abteilung für Strahlentherapie wurde jedem Patienten, der für eine RTH in Frage gekommen ist, eine von zwei Bestrahlungsoptionen empfohlen.

Seit März 2011 verfügt die MTK über einen hochmodernen Linearbeschleuniger (Elekta® Precise) zur Strahlentherapie von tumorkranken Hunden und Katzen. Das Gerät ermöglicht durch Multi-Leaf-Collimator (MLC) und digitales Portal Imaging eine vielgestaltige, detailgenaue und kontrollierte Bestrahlung von Tumoren.

Für MCT gibt es derzeit zwei mögliche Bestrahlungsprotokolle an der MTK (siehe Tab.5).

Tabelle 5: RTH-Protokolle für MCT an der MTK

Protokoll	Sitzungen	Einzeldosis in Gy	Totaldosis in Gy	Schema	Gesamtdauer in Wochen
kurativ	15	3,5	52,5	Mo-Di/Do-Fr	3,5
palliativ	5	6	30	Mo-Mi-Fr-Mo-Mi	1,5

In der Zeit vor März 2011 wurden ein paar Patienten an anderen Einrichtungen (Universität Wien, Universität Zürich, Animal Oncology and Imaging Center Hünenberg oder Tierklinik Hofheim) strahlentherapeutisch behandelt. Hierzu fehlen leider die genauen Protokolle.

### 1.6. Chemotherapie-Protokolle und Tyrosinkinase-Inhibitoren

Hunden, die für eine Chemotherapie in Frage kommen (Mastzelltumor Grad III nach Patnaik oder high-grade nach Kiupel, Hinweise auf eine systemische Ausbreitung oder lokale Tumorreste post OP), wurde als first-line Therapieoption ein Protokoll mit Vinblastin und Prednisolon empfohlen.

▪ Vinblastin + Pred:

Vinblastin: 2 mg/m<sup>2</sup> KOF i. v., insgesamt 8 Zyklen (4x wöchentlich und 4x alle 2 Wochen)

Prednisolon: 2 mg/kg KM p. o., reduzierend bis auf 0,5 mg/kg KM täglich

Vor jeder Vinblastingabe: Blutbild und Differentialblutbild

Vor der ersten Therapie und in Woche 4, 8 und 12 zusätzlich Serumprofil

(Leber, Niere)

Gesamtdauer: 12 Wochen

Andere Therapieprotokolle waren:

- Lomustin + Masivet® (nach Johan de Vos, mündliche Mitteilung 2013):  
Lomustin: 70 mg/m<sup>2</sup> KOF p. o., Woche 1, 4, 7, 10, 13 und 16  
Masivet®: 10 mg/kg KM p. o., täglich  
Enrofloxacin: 5 mg/kg KM p. o., täglich an Tage 2 bis 10 nach Lomustin  
Vor Lomustingabe Serumprofil (Leber, Niere)  
Immer 10 Tage nach Lomustin Neutrophile und Thrombozyten kontrollieren.
- Masivet® oder Palladia®:  
Masivet: 10 mg/kg KM p. o., täglich  
Palladia: 3,25 mg/kg KM p. O., jeden zweiten Tag

### **1.7. Nachkontrolle und Re-Staging**

Patienten, die zur Bestrahlung an der MTK waren und ihr Protokoll abgeschlossen haben, wurde eine Nachkontrolle 3 Wochen, 3 Monate, 6 Monate und 1 Jahr nach der letzten RTH angeraten.

Ein Re-Staging des Hundes sollte 6 Monate und 1 Jahr post letzter Behandlung erfolgen.

Die Auswirkungen der RTH wurden nach den Kriterien von LaDue et al. bewertet (LADUE & KLEIN, 2001). Nebenwirkungen einer Chemotherapie sind anhand der VCOG-Kriterien beurteilt und eingestuft worden (VCOG, 2016).

Bestrahlungs- und Chemotherapiepatienten haben oftmals eine lange Anreise, sodass die Nachkontrolle bei diesen Tieren vermutlich beim Haustierarzt durchgeführt wurde und viele somit kein komplettes follow-up nachweisen können. Sofern die Angaben in den Patientenkarteien nicht vollständig waren, wurde versucht, in Telefonaten mit den Besitzern oder den jeweiligen Haustierärzten nachträglich Informationen über den weiteren Krankheitsverlauf (Rezidive, Nebenwirkungen, Überlebenszeiten) zu erlangen.



### 1.8. Statistik

Die statistische Auswertung wurde mit MS-Excel® und IBM SPSS Statistics® durchgeführt. Hierbei wurden die Daten deskriptiv, mit Angaben der absoluten und prozentualen Häufigkeiten, der Mittelwerte und der Standardabweichung, ausgewertet. Kategorische und metrische Daten wurden in verschiedenen Gruppen verglichen, Minimal- und Maximalwerte ermittelt und Medianwerte festgelegt.

Für den Vergleich kategorischer Daten wurde der Pearson-Chi-Quadrat-Test oder der exakte Test nach Fisher verwendet. Der Mann-Whitney-U-Test oder Kruskal-Wallis-Test ist beim Vergleich von zwei oder mehreren Gruppen mit kontinuierlichen Daten eingesetzt worden.

Das Signifikanzniveau wurde bei  $P < 0,05$  festgelegt.

Für die Ermittlung statistischer Unterschiede im Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander wurden verschiedene statistische Tests verwendet:

- t-Test: für Unterschiede der Altersverteilung, Versagen erste Chemo und MST
- Mann-Whitney-U-Test: Überlebenszeiten und MI, c-KIT und Therapie ja/nein mit MST, Versagen erste Chemo mit MST
- Kruskal-Wallis-Test: MST und OP+adjuvante Therapie

Die Überlebenszeitendaten wurden mit dem Kaplan-Meier-Verfahren berechnet und graphisch mittels einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt. Bei Patienten, die überlebt haben, wurde die Überlebenszeit in der Berechnung zum Zeitpunkt ihres jeweils letzten Besuchs oder Telefonkontaktes zensiert.

## **IV. ERGEBNISSE**

### **1. Studienpopulation**

Die erste Trefferanalyse ergab 231 Hunde, die im Zeitraum zwischen 2006 und 2015 wegen eines MCT an der MTK vorstellig wurden. Durch Überschneidungen und Doppelaufzählungen in zwei elektronischen Datenbanken musste bei genauem Nachlesen der Krankengeschichten die Patientenzahl nach unten korrigiert werden.

Weitere Gründe für die Korrektur der ursprünglichen Trefferanzahl waren:

- MCT nur ein Nebebefund und die Hunde wurden wegen einer anderen Tumorerkrankung (Schilddrüsenkarzinom, Mammakarzinom, Osteosarkom, Lymphom, Hämangiosarkom, Leydigzelltumor, primärer Lungentumor oder Übergangszellkarzinom) therapiert
- Patientenbesitzer ohne Hund und nur zur einmaligen Beratung in der MTK
- FNA an der MTK war negativ und der Verdacht auf einen MCT konnte nicht bestätigt werden
- Beratung des Patientenbesitzers erfolgte einmalig am Telefon
- behandelte Patient läuft unter zwei verschiedenen Besitzernamen in Vetera®
- ein Hund wurde zur Therapie aus Kenia eingeflogen und ging danach sofort wieder zurück
- Ergebnisse einer Medikamentenstudie dürfen nicht anderweitig verwendet werden

Durch diese Einschränkungen ergab sich für den genannten Zeitraum letztendlich eine Trefferanzahl von 198 Hunden, die an der Kleintierklinik der LMU therapiert wurden.

#### **1.1. Mittleres Alter und Körpergewicht**

Die Studienpopulation hatte ein mittleres Alter von 8,7 Jahren und ein mittleres Körpergewicht von 25,3 Kilogramm.

### 1.2. Geschlecht

Bei der Auswertung anhand des Geschlechts ergab sich die in Tab. 6 dargestellte Verteilung.

Tabelle 6: Geschlechtsverteilung

Geschlecht der Hunde	Anzahl	Prozent
männlich	60	30,3
männlich kastriert	31	15,7
weiblich	49	24,7
weiblich kastriert	58	29,3
total	198	100,0

### 1.3. Rasseprädisposition

Bei der Auswertung der Rassenverteilung waren die drei häufigsten Vertreter mit MCT Mischlinge (n=59), Labrador Retriever (n=27) und Golden Retriever (n=20). Boxer (n=6) und Mops (n=7) waren in geringeren Fallzahlen vertreten.

Für den gleichen Zeitraum ergaben sich bei der Betrachtung aller Patienten der MTK für die oben genannten Rassen folgende Zahlen:

1. Mischlinge: 7914
2. Labrador Retriever: 1285
3. Golden Retriever: 933
4. Boxer: 480
5. Möpse: 413

Im Vergleich mit der Gesamtpopulation an Hunden, die im gleichen Zeitraum an der MTK behandelt wurden, waren Labrador Retriever (n = 27;  $p < 0,01$ ), Golden Retriever (n = 20;  $p < 0,01$ ) und Shar Peis (n = 3;  $p = 0,015$ ) signifikant häufiger vertreten als andere Hunderassen. Ebenfalls überproportional häufig waren Boxer (n = 6;  $p = 0,061$ ) und Möpse (n = 7;  $p = 0,061$ ) vorstellig, jedoch reichten die Fallzahlen hier nicht für eine Signifikanz aus.

Eine Übersicht über alle Hunderassen, die im Zeitraum der Studie vorstellig wurden, ist Tabelle 7 zu entnehmen.

Tabelle 7: Verteilung Hunderassen mit MCT an der MTK zwischen 2006-2015

Hunderassen mit MCT	Anzahl	Prozent
Austral. Shepherd	4	2,0
Beagle	3	1,5
Berner Sennenhund	4	2,0
Border Collie	2	1,0
Boston Terrier	1	0,5
Boxer	6	3,0
Bullmastif	1	0,5
Bullterrier	2	1,0
Cocker	1	0,5
Continental Bulldog	1	0,5
Dackel	1	0,5
Deutscher Schäferhund	3	1,5
Dobermann	3	1,5
Dt. Pinscher	1	0,5
engl. Bulldogge	1	0,5
engl. Setter	2	1,0
Fauve de Bretagne	1	0,5
FBI	1	0,5
Flatcoated Retriever	1	0,5
Franz. Bulldogge	3	1,5
Golden Retriever	20	10,1
Hovawart	1	0,5
Irish Terrier	1	0,5
Jack Russel	5	2,5
Kleiner Münsterländer	1	0,5
Labrador	27	13,6
Leonberger	1	0,5
Malinois	1	0,5
Malteser	1	0,5
Mischling	59	29,8
Mops	7	3,5
Parson Jack Russel	1	0,5
Pudel	2	1,0
Rauhaardackel	3	1,5
Rhodesian Ridgeback	4	2,0
Riesenschnauzer	1	0,5
Rottweiler	2	1,0
Schnauzer	2	1,0
Shar Pei	3	1,5
Sheltie	1	0,5
Shiba Inu	1	0,5
Teckel	2	1,0
Terrier	1	0,5
Tibet Spaniel	1	0,5
Vizsla	2	1,0
Weimaraner	2	1,0
Yorkie	2	1,0
Yorkshire Terrier	1	0,5
Zwergschnauzer	1	0,5
total	198	100,0

### 1.4. Tumorlokalisation

Die MCT wurden in vier Gruppen eingeteilt:

- Hautform (singulärer Tumor, kutan und subkutan) mit 128 von 198 Fällen (64,6 %)
- perineale / inguinale Form mit 20 von 198 Fällen (10,1 %),
- multiple Form (mehr als zwei Tumoren gleichzeitig) mit 48 von 198 Fällen (24,2 %)
- disseminierte Form mit 2 von 198 Fällen (1,0 %).

Im Hinblick auf die genaue Lokalisation dieser Tumoren zeigte sich, dass 65 von 198 Fällen (32,8 %) in dieser Studie an den Extremitäten lokalisiert waren und sich 26 von 198 Fällen (13,1 %) im Bereich des Rumpfes befanden. Die genaue der Verteilung der Tumoren siehe Tab. 8.

Tabelle 8: Lokalisation der MCT

	MCT Lokalisation									total
	keine Angabe	Bauchwand	Brustwand	Kopf/Hals/Rute	Extremitäten	Gesäuge	disseminiert	perineal/inguinal	multipel	
Hautform	3	10	16	31	65	3	0	0	0	128
perineale/inguinale Form	0	0	0	0	0	0	0	17	3	20
multiple Form	0	0	0	0	0	0	0	0	48	48
disseminierte Form	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
total	3	10	16	31	65	3	2	17	51	198

### 1.5. Paraneoplastisches Syndrom

Insgesamt wurde bei 74 von 198 (37,4 %) Hunden zum Zeitpunkt der Erstvorstellung an der MTK ein paraneoplastisches Syndrom beobachtet.

Bei 57 von 198 Fällen (28,8 %) wurden Juckreiz und ein entzündeter Primärtumor verzeichnet. Für die genaue Verteilung siehe Tab. 9.

Tabelle 9: Juckreiz und Entzündung als paraneoplastisches Syndrom

		Juckreiz, Entzündung		total
		nein	ja	
MCT Diagnose	Hautform	88	40	128
	perineale/inguinale Form	17	3	20
	multiple Form	35	13	48
	disseminierte Form	1	1	2
total		141	57	198

Erbrechen wurde bei 17/198 (8,6 %) der Studienpopulation in der Erstuntersuchung angegeben. Für einen Überblick siehe Tab. 10.

**Tabelle 10: Erbrechen als paraneoplastisches Syndrom**

		Erbrechen		total
		nein	ja	
MCT Diagnose	Hautform	114	14	128
	perineale/inguinale Form	17	3	20
	multiple Form	48	0	48
	disseminierte Form	2	0	2
total		181	17	198

Für das Fehlen von Erbrechen bei multiplen MCT fand sich hier leider kein signifikanter Unterschied.

Ein zeitgleiches Auftreten von Durchfall mit einem MCT wurde nicht erfasst, da anamnestisch von vielen Patientenbesitzern eine Allotriophagie ihres Hundes angegeben wurde.

### 1.6. Histologischer Tumorgrad

Bei Analyse der Verteilung des Tumorgrads hatten 23 von 198 (11,6 %) einen histologischen Tumorgrad nach Patnaik von Grad I und 121 von 198 (61,1 %) von Grad II oder Grad III. Bei nicht ganz eindeutigen Fällen haben die Pathologen hier auch Zwischenstufen eingeteilt und das dreistufige Patnaiksystem in fünf Stufen bewertet. Eine Aufteilung in die verschiedenen Gruppen siehe Tab. 11.

**Tabelle 11: Verteilung Tumorgrad nach Patnaik**

		Patnaik						total
		keine Angabe	Grad I	Grad I-II	Grad II	Grad II-III	Grad III	
MCT Diagnose	Hautform	25	17	3	52	4	27	128
	perineale/inguinale Form	3	2	0	10	2	3	20
	multiple Form	16	4	5	14	3	6	48
	disseminierte Form	2	0	0	0	0	0	2
total		46	23	8	76	9	36	198

Mit dem zweistufigen System nach Kiupel wurden ab dem Jahr 2011 insgesamt 51 von 198 Fällen (25,8 %) der Hunde bewertet (siehe Tab. 12).

Tabelle 12: Verteilung Tumorgrad nach Kiupel

		Kiupel			total
		keine Angabe	low grade	high grade	
MCT Diagnose	Hautform	93	28	7	128
	perineale/inguinale Form	13	5	2	20
	multiple Form	39	9	0	48
	disseminierte Form	2	0	0	2
total		147	42	9	198

### 1.7. Rezidive in der Krankengeschichte

Im Gesamten betrachtet hatten 78 von 198 (39,3 %) Hunden über den Studienzeitraum ein Rezidiv oder wurden schon damit vorstellig.

Für die Rezidivierungsrate, getrennt nach dem histologischen Tumorgrad nach Patnaik und Kiupel, siehe Tab. 13 - 14.

Tabelle 13: Tumorgrad nach Patnaik mit Rezidiv im Studienzeitraum

			Rezidiv im Studienzeitraum		total
			kein Rezidiv	Rezidiv	
Patnaik	keine Angabe	Count	34	12	46
		% within Patnaik	73,9%	26,1%	100,0%
	Grad I	Count	15	8	23
		% within Patnaik	65,2%	34,8%	100,0%
	Grad I-II	Count	2	6	8
		% within Patnaik	25,0%	75,0%	100,0%
	Grad II	Count	49	27	76
		% within Patnaik	64,5%	35,5%	100,0%
	Grad II-III	Count	1	8	9
		% within Patnaik	11,1%	88,9%	100,0%
	Grad III	Count	19	17	36
		% within Patnaik	52,8%	47,2%	100,0%
total	Count	120	78	198	
	% within Patnaik	60,6%	39,4%	100,0%	

Tabelle 14: Tumorgrad nach Kiupel mit Rezidiv im Studienzeitraum

			Rezidiv im Studienzeitraum		total
			kein Rezidiv	Rezidiv	
Kiupel	keine Angabe	Count	90	57	147
		% within Kiupel	61,2%	38,8%	100,0%
	low grade	Count	26	16	42
		% within Kiupel	61,9%	38,1%	100,0%
	high grade	Count	4	5	9
		% within Kiupel	44,4%	55,6%	100,0%
total	Count	120	78	198	
	% within Kiupel	60,6%	39,4%	100,0%	

Signifikante Unterschiede konnten hier nicht belegt werden.

### 1.8. Staging und Metastasen

Im Zuge der Beratung wurde bei der allgemeinen klinischen Untersuchung der Patienten bei 44 von 198 Fällen (22,2 %) eine Vergrößerung des regionären LK festgestellt (siehe Tab. 15).

Tabelle 15: Vergrößerung des regionären Lymphknotens

			Vergrößerung regionärer Lymphknoten		total
			nein	ja	
MCT Diagnose	Hautform	Count	99	29	128
		% within MCT Diagnose	77,3%	22,7%	100,0%
	perineale/inguinale Form	Count	15	5	20
		% within MCT Diagnose	75,0%	25,0%	100,0%
	multiple Form	Count	38	10	48
		% within MCT Diagnose	79,2%	20,8%	100,0%
	disseminierte Form	Count	2	0	2
		% within MCT Diagnose	100,0%	0,0%	100,0%
total	Count		154	44	198
	% within MCT Diagnose		77,8%	22,2%	100,0%

Für die Beurteilung einer möglichen Metastasierung des Tumors wurde bei 118 von 198 Fällen (59,6 %) ein Röntgenbild des Thorax angefertigt und bei 113 von 198 Fällen (57,1 %) eine ultrasonographische Untersuchung des Abdomens mit Beurteilung von Leber und Milz durchgeführt. Als weitere Option für die Diagnose einer Mastzelltumormetastase wurde im Verlauf der Untersuchung eine FNA von Leber bei 47 von 198 (23,7 %), LK bei 38 von 198 (19,2 %) und Milz bei 60 von 198 Fällen (30,3 %) durchgeführt.

Mit diesen Untersuchungen wurden bei der Mehrheit der Patienten keine Metastasen zum Zeitpunkt der Untersuchung festgestellt (siehe Tab.16). Im Falle des Nachweises von Metastasen hatten die regionären LK die häufigsten positiven Befunde (13,1 %). Dieses Ergebnis war jedoch nicht signifikant.



Tabelle 16: Tumorform und Metastasen

			Metastasen								total	
			keine	Milz	Leber	LK	Lunge	Milz + LK	Leber + LK	Milz + Leber		Milz + Leber + LK
MCT Diagnose	Hautform	Count	103	2	1	18	1	1	1	0	1	128
		% within MCT Diagnose	80,50%	1,60%	0,80%	14,10%	0,80%	0,80%	0,80%	0,00%	0,80%	100,00%
	perineale/inguinale Form	Count	12	2	1	3	0	2	0	0	0	20
		% within MCT Diagnose	60,00%	10,00%	5,00%	15,00%	0,00%	10,00%	0,00%	0,00%	0,00%	100,00%
	multiple Form	Count	42	1	0	5	0	0	0	0	0	48
		% within MCT Diagnose	87,50%	2,10%	0,00%	10,40%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	100,00%
	disseminierte Form	Count	1	0	0	0	0	0	0	1	0	2
		% within MCT Diagnose	50,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	50,00%	0,00%	100,00%
total	Count	158	5	2	26	1	3	1	1	1	198	
	% within MCT Diagnose	79,80%	2,50%	1,00%	13,10%	0,50%	1,50%	0,50%	0,50%	0,50%	100,00%	

### 1.9. Blutbildveränderungen

Noch vor der ersten Behandlung wurde den Hunden eine Blutprobe für eine Laboruntersuchung abgenommen. Hierbei zeigte sich, dass sich die meisten Werte im Referenzbereich befanden (siehe Tab. 17 – 21).

Tabelle 17: Ergebnisse für WBC

			WBC			total
			im Referenzbereich (5-16x10 <sup>9</sup> /l)	erniedrigt	erhöht	
MCT Diagnose	Count		81	3	10	94
	Hautform	% within MCT Diagnose	86,2%	3,2%	10,6%	100,0%
	Count		12	1	2	15
	perineale/ inguinale Form	% within MCT Diagnose	80,0%	6,7%	13,3%	100,0%
	Count		37	1	1	39
	multiple Form	% within MCT Diagnose	94,9%	2,6%	2,6%	100,0%
	Count		1	0	1	2
	disseminierte Form	% within MCT Diagnose	50,0%	0,0%	50,0%	100,0%
Count			131	5	14	150
total	% within MCT Diagnose		87,3%	3,3%	9,3%	100,0%

Tabelle 18: Ergebnisse für neutrophile Granulozyten

			neutrophile Granulozyten			total
			im Referenzbereich (3-9x10 <sup>9</sup> /l)	erniedrigt	erhöht	
MCT Diagnose	Hautform	Count	67	3	21	91
		% within MCT Diagnose	73,6%	3,3%	23,1%	100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count	11	0	5	16
		% within MCT Diagnose	68,8%	0,0%	31,3%	100,0%
	multiple Form	Count	32	0	4	36
		% within MCT Diagnose	88,9%	0,0%	11,1%	100,0%
	disseminierte Form	Count	1	0	1	2
		% within MCT Diagnose	50,0%	0,0%	50,0%	100,0%
total	Count	111	3	31	145	
	% within MCT Diagnose	76,6%	2,1%	21,4%	100,0%	

Tabelle 19: Ergebnisse für Thrombozyten

			Thrombozyten			total
			im Referenzbereich (180-550x10 <sup>9</sup> /l)	erniedrigt	erhöht	
MCT Diagnose	Hautform	Count	78	10	7	95
		% within MCT Diagnose	82,1%	10,5%	7,4%	100,0%
	perineale/inguinale Form	Count	13	0	2	15
		% within MCT Diagnose	86,7%	0,0%	13,3%	100,0%
	multiple Form	Count	36	1	2	39
		% within MCT Diagnose	92,3%	2,6%	5,1%	100,0%
	disseminierte Form	Count	1	1	0	2
		% within MCT Diagnose	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
total	Count	128	12	11	151	
	% within MCT Diagnose	84,8%	7,9%	7,3%	100,0%	

Tabelle 20: Ergebnisse für eosinophile Granulozyten

			eosinophile Granulozyten			total
			im Referenzbereich (0,04-0,6x10 <sup>9</sup> /l)	erniedrigt	erhöht	
MCT Diagnose	Hautform	Count	60	3	23	86
		% within MCT Diagnose	69,8%	3,5%	26,7%	100,0%
	perineale/inguinale Form	Count	12	0	2	14
		% within MCT Diagnose	85,7%	0,0%	14,3%	100,0%
	multiple Form	Count	26	1	9	36
		% within MCT Diagnose	72,2%	2,8%	25,0%	100,0%
		Count	98	4	34	136
		% within MCT Diagnose	72,1%	2,9%	25,0%	100,0%

Tabelle 21: Anämiegrad nach VCOG-Kriterien

			Grad Anämie		total
			Keine	Grad 1	
MCT Diagnose	Hautform	Count	89	6	95
		% within MCT Diagnose	93,7%	6,3%	100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count	15	1	16
		% within MCT Diagnose	93,8%	6,3%	100,0%
	multiple Form	Count	37	2	39
		% within MCT Diagnose	94,9%	5,1%	100,0%
	disseminierte Form	Count	1	1	2
		% within MCT Diagnose	50,0%	50,0%	100,0%
total	Count	142	10	152	
	% within MCT Diagnose	93,4%	6,6%	100,0%	

Für die Nierenfunktion wurde die Konzentration von Harnstoff und Creatinin bestimmt (siehe Tab. 22 - 23).

Tabelle 22: Ergebnisse für Harnstoff nach VCOG-Kriterien

			Harnstoff-VCOG Kriterien					total
			im Referenz- bereich (3,52-10,78 µmol/l)	erniedrigt	Grad I	Grad II	Grad III	
MCT Diagnose	Hautform	Count	74	5	3		2	84
		% within MCT Diagnose	88,1%	6,0%	3,6%	0,0%	2,4%	100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count	11	1	2	0	0	14
		% within MCT Diagnose	78,6%	7,1%	14,3%	0,0%	0,0%	100,0%
	multiple Form	Count	34	4	0	1	0	39
		% within MCT Diagnose	87,2%	10,3%	0,0%	2,6%	0,0%	100,0%
	disseminierte Form	Count	1	0	1	0	0	2
		% within MCT Diagnose	50,0%	0,0%	50,0%	0,0%	0,0%	100,0%
total	Count	120	10	6	1	2	139	
	% within MCT Diagnose	86,3%	7,2%	4,3%	,7%	1,4%	100,0%	

Tabelle 23: Ergebnisse für Creatinin nach VCOG-Kriterien

			Crea-VCOG				total
			im Referenzbereich (44-125 µmol/l)	erniedrigt	Grad I	Grad II	
MCT Diagnose	Hautform	Count	76	2	5	1	84
		% within MCT Diagnose	90,5%	2,4%	6,0%	1,2%	100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count	13	0	1	0	14
		% within MCT Diagnose	92,9%	0,0%	7,1%	0,0%	100,0%
	multiple Form	Count	39	0	0	0	39
		% within MCT Diagnose	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	disseminierte Form	Count	2	0	0	0	2
		% within MCT Diagnose	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
total		Count	130	2	6	1	139
		% within MCT Diagnose	93,5%	1,4%	4,3%	,7%	100,0%

Als Leberparameter wurden die alkalische Phosphatase-Aktivität (AP) sowie die Alanin-Aminotransferase-Aktivität (ALT) erfasst (siehe Tab. 24 – 25).

Tabelle 24: AP-Aktivität nach VCOG-Kriterien

			AP-VCOG				total
			im Referenzbereich (13-152 U/l)	Grad I	Grad II	Grad III	
MCT Diagnose	Hautform	Count	70	6	3	2	81
		% within MCT Diagnose	86,4%	7,4%	3,7%	2,5%	100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count	11	0	3	0	14
		% within MCT Diagnose	78,6%	0,0%	21,4%	0,0%	100,0%
	multiple Form	Count	31	4	1	0	36
		% within MCT Diagnose	86,1%	11,1%	2,8%	0,0%	100,0%
	disseminierte Form	Count	2	0	0	0	2
		% within MCT Diagnose	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
total	Count	114	10	7	2	133	
	% within MCT Diagnose	85,7%	7,5%	5,3%	1,5%	100,0%	

Tabelle 25: ALT-Aktivität nach VCOG-Kriterien

			ALT-VCOG			total
			im Referenzbereich (18-110 U/l)	Grad I	Grad II	
MCT Diagnose	Hautform	Count	77	1	3	81
		% within MCT Diagnose	95,1%	1,2%	3,7%	100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count	11	1	2	14
		% within MCT Diagnose	78,6%	7,1%	14,3%	100,0%
	multiple Form	Count	32	2	2	36
		% within MCT Diagnose	88,9%	5,6%	5,6%	100,0%
	disseminierte Form	Count	2	0	0	2
		% within MCT Diagnose	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
total	Count	122	4	7	133	
	% within MCT Diagnose	91,7%	3,0%	5,3%	100,0%	

### 1.10. Prognostische Faktoren (c-KIT, Ki-67, MI)

Mitotischer Index (MI): Dieser prognostische Faktor wurde bei 26 von 198 (13,1 %) Hunden angegeben und der Mittelwert lag bei 2,77 (min:0 / max:12). Orientiert an den Studien von Elston et al. (ELSTON et al., 2009) und Kiupel et al. (KIUPEL et al., 2011) wurde hier ein cut-off-Wert bei einem MI von sieben festgelegt. Bei 14 Patienten war zudem die MST bekannt. MI und MST sind in Tabelle 26 zu finden.

Tabelle 26: mitotischer Index und MST

MST (in Tagen)						
Cut-off Mi Index	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum
≤7	11	829,0	444,0	738,0	137	1640
>7	3	1112,0	1542,5	382,0	70	2884
total	14	889,6	729,5	706,0	70	2884

Des weiteren wurde der MI auch mit dem DFI verglichen. Hierbei konnten elf Fälle verglichen werden (siehe Tab. 27).

Tabelle 27: Mitotischer Index und DFI

DFI (in Tagen)						
Cut-off Mi Index	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Minimum	Maximum
≤7	8	282,1	246,3	270,5	20,0	545,0
>7	3	760,3	1052,1	253,0	58,0	1970,0
total	11	412,5	560,1	253,0	20,0	1970,0

c-KIT-Status: Dieser wurde bei 27 von 198 (13,6 %) Patienten angegeben, und es wurde bei 17 von 27 (62,7 %) Hunden eine Veränderung festgestellt. Aufgrund der wenigen Fallzahlen wurde nicht zwischen einer Mutation und einer aberranten Expremierung unterschieden.

Für den Vergleich von MST und Veränderung des c-KIT-Status siehe Tab. 28.

**Tabelle 28: Veränderung von c-KIT und MST**

MST (in Tagen)						
c-KIT	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Median	Minimum	Maximum
Veränderung vorhanden	9	724,9	651,2	569,0	49	1962
keine Veränderung vorhanden	6	1237,8	935,0	921,5	382	2884
total	15	930,1	788,8	840,0	49	2884

Bei dem Vergleich von c-KIT mit dem DFI waren es zehn Hunde (siehe Tab. 29).

**Tabelle 29: Veränderung von c-KIT und DFI**

DFI (in Tagen)						
c-KIT	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Median	Minimum	Maximum
Veränderung vorhanden	4	217,0	233,5	151,5	20,0	545,0
keine Veränderung vorhanden	6	735,2	650,4	485,0	253,0	1970,0
total	10	527,9	569,9	365,5	20,0	1970,0

Für die Aussage über einen signifikanten Unterschied reichten hier die Fallzahlen nicht aus.

Ki-67: Dieser prognostische Faktor wurde über den Studienverlauf bei elf Hunden angegeben. Der cut-off-Wert lag, wie in der Studie von Webster und Mitarbeitern, bei 23 positiven Zellen pro Netzbereich (WEBSTER et al., 2007). Sechs Hunde hatten einen Ki67-Index  $\leq 23$  und fünf Hunde waren in der Gruppe  $> 23$ . Im Vergleich mit der MST waren noch sieben Patienten übrig (siehe Tab. 30).

**Tabelle 30: Ki-67 und MST**

MST (in Tagen)						
Cut-off Ki67	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Median	Minimum	Maximum
$\leq 23$	5	632,2	332,9	674,0	137	1003
$> 23$	2	1168,5	164,8	1168,5	1052	1285
total	7	785,4	383,3	840,0	137	1285

Auf eine Gegenüberstellung von Ki67 und DFI wurde verzichtet, da es hier nur für zwei Patienten Angaben gab.

### 1.11. Behandlungsgruppen

Über den Studienzeitraum entwickelten sich verschiedene Therapieoptionen für canine MCT. Mit der Möglichkeit, ab dem Jahr 2011 MCT direkt in der Abteilung für Onkologie der MTK zu bestrahlen, konnte diesbezüglich ein großer Bereich von der MTK abgedeckt werden.

Die Hauptbehandlungsgruppen in dieser Studie waren:

- nur Operation: 72 von 198 Fällen (36,4 %)
- Operation und adjuvante RTH: 29 von 198 Fällen (14,6 %)
- keine Therapie (Besitzer wollten keine Behandlung oder Therapie war nicht mehr zu empfehlen): 27 von 198 Fällen (13,6 %)
- Operation und adjuvante Chemotherapie: 16 von 198 Fällen (8,1 %)
- nur Chemotherapie: 8 von 198 Fällen (4 %)
- nur TKI: 7 von 198 Fällen (3,5 %)

### 1.12. OP-Ränder

Die operative Entfernung des Tumors ist bei den meisten Patienten die Therapie der ersten Wahl und die Beurteilung der OP-Ränder ist daher postoperativ das entscheidende Kriterium für das weitere Vorgehen.

Bei 112 von 198 (56,6 %) Patienten konnten hier retrospektiv Daten über die postoperativen OP-Ränder gesammelt werden (siehe Tab. 31).

Tabelle 31: Beurteilung der OP-Ränder

			OP-Ränder				total
			Keine OP	clean	close	dirty	
MCT Diagnose	Hautform	Count	29	21	4	53	107
		% within MCT Diagnose	27,1%	19,6%	3,7%	49,5%	100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count	3	1	0	10	14
		% within MCT Diagnose	21,4%	7,1%	0,0%	71,4%	100,0%
	multiple Form	Count	12	8	3	12	35
		% within MCT Diagnose	34,3%	22,9%	8,6%	34,3%	100,0%
	disseminierte Form	Count	2	0	0	0	2
		% within MCT Diagnose	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
total	Count	46	30	7	75	158	
	% within MCT Diagnose	29,1%	19,0%	4,4%	47,5%	100,0%	

### 1.13. Chemotherapie-Protokolle

Neben den verschiedenen Behandlungsgruppen ergaben sich über den Studienzeitraum auch unterschiedliche Chemotherapieprotokolle für die systemische Therapie caniner MCT.

Das am häufigsten angewandte Protokoll war die Kombination aus Vinblastin und Prednisolon mit 35 von 67 Fällen (52,2 %). Mit Zulassung der TKI folgen Palladia® mit 21 von 67 Fällen (31,3 %) und Masivet® mit 14 von 67 Fällen (20,9 %).

Auch die Anzahl der Protokolle, die ein Hund im Verlauf der Therapie erhalten hat, wurde hier evaluiert (siehe Tab. 32).

Tabelle 32: Anzahl Therapieprotokolle

			Anzahl Chemoprotokolle bzw. TKI				total
			keine Chemo oder TKI	1 Protokoll	2 verschd. Protokolle	3 verschd. Protokolle	
MCT Diagnose	Hautform	Count	88	37	2	1	128
		% within MCT Diagnose	68,8%	28,9%	1,6%	,8%	100,0%
	perineale/inguinale Form	Count	13	3	3	1	20
		% within MCT Diagnose	65,0%	15,0%	15,0%	5,0%	100,0%
	multiple Form	Count	28	17	2	1	48
		% within MCT Diagnose	58,3%	35,4%	4,2%	2,1%	100,0%
	disseminierte Form	Count	1	0	1	0	2
		% within MCT Diagnose	50,0%	0,0%	50,0%	0,0%	100,0%
total		Count	130	57	8	3	198
		% within MCT Diagnose	65,7%	28,8%	4,0%	1,5%	100,0%

### 1.14. RTH-Protokolle

Bei der RTH stehen an der MTK insgesamt zwei Möglichkeiten (kurativ oder palliativ) für die Behandlung caniner MCT zur Verfügung. 45 von 198 Hunden (22,7 %) wurden im Studienzeitraum strahlentherapeutisch in der Kleintierklinik der LMU behandelt (siehe Tab. 33).



Tabelle 33: Übersicht RTH-Protokolle

			RTH Protokolle				total
			keine RTH	kurative RTH	palliative RTH	nicht MTK	
MCT Diagnose	Hautform	Count % within MCT Diagnose	96 75,0%	26 20,3%	4 3,1%	2 1,6%	128 100,0%
	perineale/inguinale Form	Count % within MCT Diagnose	15 75,0%	3 15,0%	2 10,0%	0 0,0%	20 100,0%
	multiple Form	Count % within MCT Diagnose	40 83,3%	8 16,7%	0 0,0%	0 0,0%	48 100,0%
	disseminierte Form	Count % within MCT Diagnose	2 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	2 100,0%
	total	Count % within MCT Diagnose	153 77,3%	37 18,7%	6 3,0%	2 1,0%	198 100,0%

### 1.15. Nebenwirkungen Chemotherapie

Generell wurden die Reaktionen auf die Behandlung mit einem Chemotherapeutikum oder TKI bei 97 von 198 (49 %) Hunden der Studienpopulation retrospektiv erfasst (siehe Tab. 34).

Tabelle 34: Nebenwirkungen der Chemotherapie

			Chemo-NW pos/neg		total
			keine NW	NW	
MCT Diagnose	Hautform	Count % within MCT Diagnose	38 61,3%	24 38,7%	62 100,0%
	perineale/inguinale Form	Count % within MCT Diagnose	5 50,0%	5 50,0%	10 100,0%
	multiple Form	Count % within MCT Diagnose	10 41,7%	14 58,3%	24 100,0%
	disseminierte Form	Count % within MCT Diagnose	0 0,0%	1 100,0%	1 100,0%
	total	Count % within MCT Diagnose	53 54,6%	44 45,4%	97 100,0%

Bezogen auf Blutbildveränderungen wurde hier speziell die Anzahl an neutrophilen Granulozyten und der Thrombozyten im Verlauf einer Behandlung untersucht.

Neutropenien von unterschiedlichen Schweregraden, welche eine Therapieunterbrechung erforderten, traten bei insgesamt 20 Hunden auf (siehe Tab. 35). In der Tabelle fehlt Grad III, da es hier keine Fallzahlen/Patienten mit Werten in diesem Bereich gab.

Tabelle 35: Konzentration neutrophiler Granulozyten unter Chemotherapie

			VCOG-Grad neutrophile Granulozyten				total
			im Referenzbereich	Grad I	Grad II	Grad IV	
MCT Diagnose	Hautform	Count % within MCT Diagnose	21 70,00%	7 23,30%	1 3,30%	1 3,30%	30 100,00%
	perineale/inguinale Form	Count % within MCT Diagnose	3 60,00%	2 40,00%	0 0,00%	0 0,00%	5 100,00%
	multiple Form	Count % within MCT Diagnose	8 50,00%	5 31,30%	1 6,30%	2 12,50%	16 100,00%
	disseminierte Form	Count % within MCT Diagnose	0 0,00%	1 100,00%	0 0,00%	0 0,00%	1 100,00%
total		Count % within MCT Diagnose	32 61,50%	15 28,80%	2 3,80%	3 5,80%	52 100,00%

Bei den Thrombozyten wurden 51 von 198 Hunden (25,8 %) erfasst und davon lagen die Thrombozytenkonzentrationen von 45 Tieren (88,2 %) stets im Referenzbereich. Thrombozytopenien waren selten und traten als Grad I bei 4 von 51 Fällen (7,8 %) und als Grad II bei 2 von 51 Fällen (3,9 %) auf.

Neben Veränderungen des Blutbilds kann es durch die medikamentöse Behandlung auch zu anderen NW kommen. Am häufigsten wurden hierbei gastrointestinale NW wie Durchfall und Erbrechen beobachtet (siehe Tabelle 36 – 37).

Tabelle 36: VCOG Einteilung für Durchfall als Nebenwirkung der Chemotherapie

			VCOG-Grad Durchfall			total
			Grad I	Grad II	Grad III	
MCT Diagnose	Hautform	Count % within MCT Diagnose	9 81,8%	1 9,1%	1 9,1%	11 100,0%
	perineale/inguinale Form	Count % within MCT Diagnose	2 66,7%	1 33,3%	0 0,0%	3 100,0%
	multiple Form	Count % within MCT Diagnose	8 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	8 100,0%
	disseminierte Form	Count % within MCT Diagnose	1 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 100,0%
total		Count % within MCT Diagnose	20 87,0%	2 8,7%	1 4,3%	23 100,0%

Tabelle 37: VCOG Einteilung für Erbrechen als Nebenwirkung der Chemotherapie

			VCOG Erbrechen		total
			Grad I	Grad II	
MCT Diagnose	Hautform	Count	4	1	5
		% within MCT Diagnose	80,0%	20,0%	100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count	2	0	2
		% within MCT Diagnose	100,0%	0,0%	100,0%
	multiple Form	Count	2	0	2
		% within MCT Diagnose	100,0%	0,0%	100,0%
total	Count	8	1	9	
	% within MCT Diagnose	88,9%	11,1%	100,0%	

Andere verzeichnete NW waren (in absteigender Reihenfolge):

- PU/PD 8x
- Apathie 5x
- Anorexie 3x Grad I+II
- Lahmheit 3x
- Fieber 3x Grad I
- Flatulenzen 2x
- Hyperästhesie 1x
- akute Niereninsuffizienz 1x
- Nebennierenrindeninsuffizienz 1x
- gastrointestinale Blutung 1x

#### 1.16. Nebenwirkungen RTH

Bei 18 von 40 (45 %) bestrahlten Hunden wurde während bzw. auch in der Zeit nach der Bestrahlung keine Form einer NW beobachtet (siehe Tab. 38).

Tabelle 38: Nebenwirkungen der Strahlentherapie

			RTH NW					total
			keine RTH	keine Reaktion auf RTH	trockene Desquamation	nässende Desquamation	Mukositis	
MCT Diagnose	Hautform	Count	96	11	4	12	2	125
		% within MCT	76,8%	8,8%	3,2%	9,6%	1,6%	100,0%
		Diagnose						
	perineale/inguinale Form	Count	15	3	0	1	0	19
		% within MCT	78,9%	15,8%	0,0%	5,3%	0,0%	100,0%
		Diagnose						
	multiple Form	Count	40	4	0	3	0	47
		% within MCT	85,1%	8,5%	0,0%	6,4%	0,0%	100,0%
		Diagnose						
	disseminierte Form	Count	2	0	0	0	0	2
		% within MCT	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
		Diagnose						
total		Count	153	18	4	16	2	193
		% within MCT	79,3%	9,3%	2,1%	8,3%	1,0%	100,0%
		Diagnose						

Nach der Einteilung gemäß den RTH-VCOG-Kriterien wird eine trockene Desquamation mit Score 1 bewertet und eine nässende Desquamation der Haut oder Mukositis im bestrahlten Bereich als Score 2 eingestuft (LADUE & KLEIN, 2001).

### 1.17. Erster Therapieeffekt (Response)

Das Ansprechen der Patienten auf eine Therapie wurde bei 171 von 198 (86,4 %) Hunden erfasst (siehe Tab. 39).

Tabelle 39: Ansprechen auf die Behandlung (Response)

			Erster Therapieeffekt				total
			CR	PR	SD	PD	
MCT Diagnose	Hautform	Count % within MCT Diagnose	79 72,50%	13 11,90%	9 8,30%	8 7,30%	109 100,00%
	perineale/ inguinale Form	Count % within MCT Diagnose	12 66,70%	2 11,10%	1 5,60%	3 16,70%	18 100,00%
	multiple Form	Count % within MCT Diagnose	24 55,80%	6 14,00%	5 11,60%	8 18,60%	43 100,00%
	disseminierte Form	Count % within MCT Diagnose	0 0,00%	1 100,00%	0 0,00%	0 0,00%	1 100,00%
total			115 67,30%	22 12,90%	15 8,80%	19 11,10%	171 100,00%

### 1.18. Langzeit-Therapieeffekt (Outcome)

Das endgültige Outcome der Therapie an der MTK wurde retrospektiv für 167 von 198 (84,3 %) Fällen erfasst (siehe Tab. 40).

Tabelle 40: Outcome der Behandlung

			Langzeit Therapieeffekt				total
			CR	PR	SD	PD	
MCT Diagnose	Hautform	Count % within MCT Diagnose	65 60,70%	4 3,70%	7 6,50%	31 29,00%	107 100,00%
	perineale/ inguinale Form	Count % within MCT Diagnose	6 35,30%	0 0,00%	1 5,90%	10 58,80%	17 100,00%
	multiple Form	Count % within MCT Diagnose	19 45,20%	2 4,80%	5 11,90%	16 38,10%	42 100,00%
	disseminierte Form	Count % within MCT Diagnose	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	1 100,00%	1 100,00%
total			90 53,90%	6 3,60%	13 7,80%	58 34,70%	167 100,00%

### 1.19. Todesursache

Für die Evaluierung der Überlebenszeiten wurde bei den Telefonaten mit den Patientenbesitzern ebenfalls versucht, die Todesursache herauszufinden. Angaben hierzu konnten von 105 der 198 (53 %) Hundebesitzer gemacht werden (siehe Tab. 41).

Tabelle 41: Todesursache der Patienten

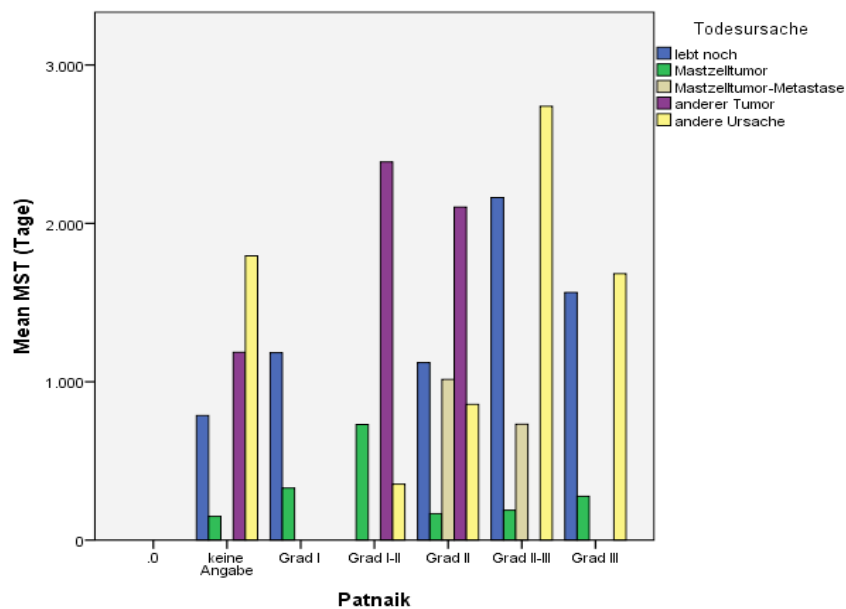
			Todesursache					total
			lebt noch	Mastzelltumor	Mastzelltumor-metastase	anderer Tumor	andere Ursache	
MCT Diagnose	Hautform	Count % within MCT Diagnose	18 30,5%	25 42,4%	4 6,8%	3 5,1%	9 15,3%	59 100,0%
	perineale/ inguinale Form	Count % within MCT Diagnose	3 27,3%	6 54,5%	1 9,1%	0 0,0%	1 9,1%	11 100,0%
	multiple Form	Count % within MCT Diagnose	10 29,4%	18 52,9%	1 2,9%	2 5,9%	3 8,8%	34 100,0%
	disseminierte Form	Count % within MCT Diagnose	0 0,0%	1 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 100,0%
total			31 29,5%	50 47,6%	6 5,7%	5 4,8%	13 12,4%	105 100,0%

Todesursache im Vergleich mit Tumorgrad nach Patnaik: Von 105 Hunden sind insgesamt 74 Tiere über den Studienzeitraum verstorben. Davon hatten 42 von 74 Hunden einen Tumorgrad II oder schlechter (siehe Tab. 42 und Abb. 1).

Tabelle 42: Todesursache und Tumorgrad nach Patnaik

			Patnaik						total
			keine Angabe	Grad I	Grad I-II	Grad II	Grad II-III	Grad III	
Todes- ursache	lebt noch	Count % within Patnaik	1 3,80%	5 55,60%	0 0,00%	22 59,50%	1 14,30%	2 8,70%	31 29,50%
	Mastzelltumor	Count % within Patnaik	20 76,90%	4 44,40%	1 33,30%	6 16,20%	3 42,90%	16 69,60%	50 47,60%
	Mastzelltumor -metastase	Count % within Patnaik	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	4 10,80%	2 28,60%	0 0,00%	6 5,70%
	anderer Tumor	Count % within Patnaik	2 7,70%	0 0,00%	1 33,30%	2 5,40%	0 0,00%	0 0,00%	5 4,80%
	andere Ursache	Count % within Patnaik	3 11,50%	0 0,00%	1 33,30%	3 8,10%	1 14,30%	5 21,70%	13 12,40%
	total	Count % within Patnaik	26 100,00 %	9 100,00 %	3 100,00 %	37 100,00 %	7 100,00 %	23 100,00 %	105 100,00 %

Abbildung 1: Todesursache und Tumorgrad nach Patnaik



Todesursache anhand des Tumorgrads nach Kiupel: Dieser Tumorgrad wurde nur bei 33 Hunden erfasst, 26x low-grade und 7x high-grade (siehe Tab. 43).

Tabelle 43: Todesursache und Tumorgrad nach Kiupel

		Kiupel			total
		keine Angabe	low-grade	high-grade	
Todesursache	lebt noch	Count 8	21	2	31
		% within Kiupel 11,10%	80,80%	28,60%	29,50%
	Mastzelltumor	Count 42	4	4	50
		% within Kiupel 58,30%	15,40%	57,10%	47,60%
	Mastzelltumor-metastase	Count 5	1	0	6
		% within Kiupel 6,90%	3,80%	0,00%	5,70%
	anderer Tumor	Count 4	0	1	5
		% within Kiupel 5,60%	0,00%	14,30%	4,80%
	andere Ursache	Count 13	0	0	13
		% within Kiupel 18,10%	0,00%	0,00%	12,40%
total	Count 72	26	7	105	
	% within Kiupel 100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	

Todesursache anhand des WHO-Stagings: Von insgesamt 105 Tieren, bei denen Todesursache und dieses Stagingssystem bekannt waren, sind 50 Hunde durch den MCT verstorben (18x Stadium I, 18x Stadium III). 31 Patienten waren noch am Leben (siehe Tab. 44).

Tabelle 44: Todesursache und WHO-Stadium

			Stage					total
			Stadium 0	Stadium 1	Stadium 2	Stadium 3	Stadium 4	
Todesursache	lebt noch	Count % within Stage	4 57,10%	13 29,50%	3 23,10%	10 29,40%	1 14,30%	31 29,50%
	Mastzelltumor	Count % within Stage	0 0,00%	18 40,90%	9 69,20%	18 52,90%	5 71,40%	50 47,60%
	Mastzelltumor-metastase	Count % within Stage	1 14,30%	3 6,80%	1 7,70%	1 2,90%	0 0,00%	6 5,70%
	anderer Tumor	Count % within Stage	2 28,60%	1 2,30%	0 0,00%	2 5,90%	0 0,00%	5 4,80%
	andere Ursache	Count % within Stage	0 0,00%	9 20,50%	0 0,00%	3 8,80%	1 14,30%	13 12,40%
	total	Count % within Stage	7 100,00%	44 100,00%	13 100,00%	34 100,00%	7 100,00%	105 100,00%

### 1.20. Mediane Überlebenszeit

Die MST konnte bei 104 von 198 Hunden (52,5 %) errechnet und angegeben werden. Im Gesamten betrachtet lag sie bei 567,5 Tagen (siehe Tab. 45).

Tabelle 45: Todesursache und MST

Todesursache	MST (in Tagen)			
	Mean	Median	Minimum	Maximum
lebt noch	1182,48	1065,00	442	2830
Mastzelltumor	219,69	117,00	0	1730
Mastzelltumor-Metastase	921,00	927,50	89	1962
anderer Tumor	1793,60	1336,00	1037	2884
andere Ursache	1497,15	1435,00	92	2920
total	782,49	567,50	0	2920

Die Kaplan-Meier-Kurven für den Tumorgrad nach Patnaik oder Kiupel und für die Einteilungskriterien der WHO finden sich in Abb. 2 – 4.



Abbildung 2: Kaplan-Meier-Kurve Tumorgrad nach Patnaik

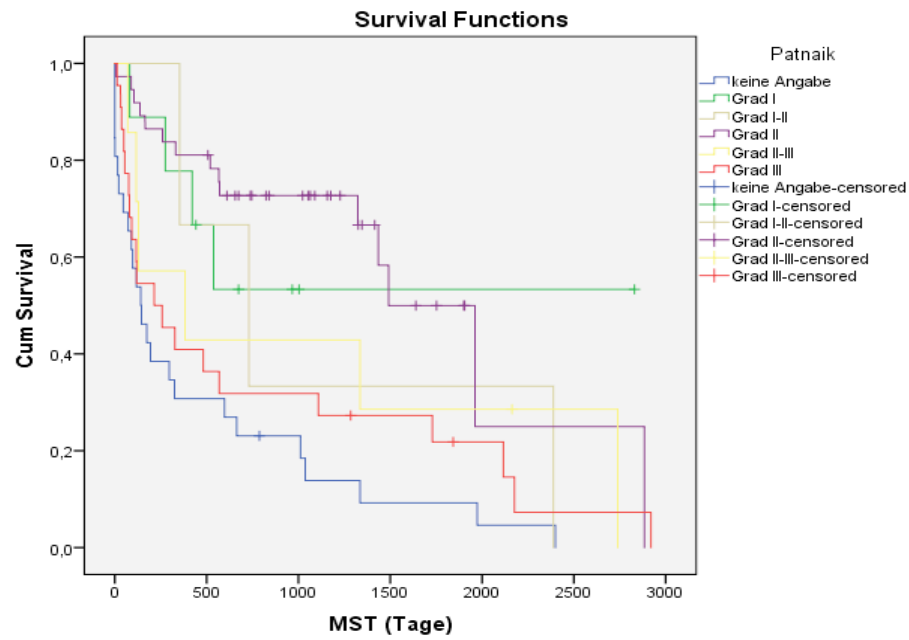


Abbildung 3: Kaplan-Meier-Kurve Tumorgrad nach Kiupel

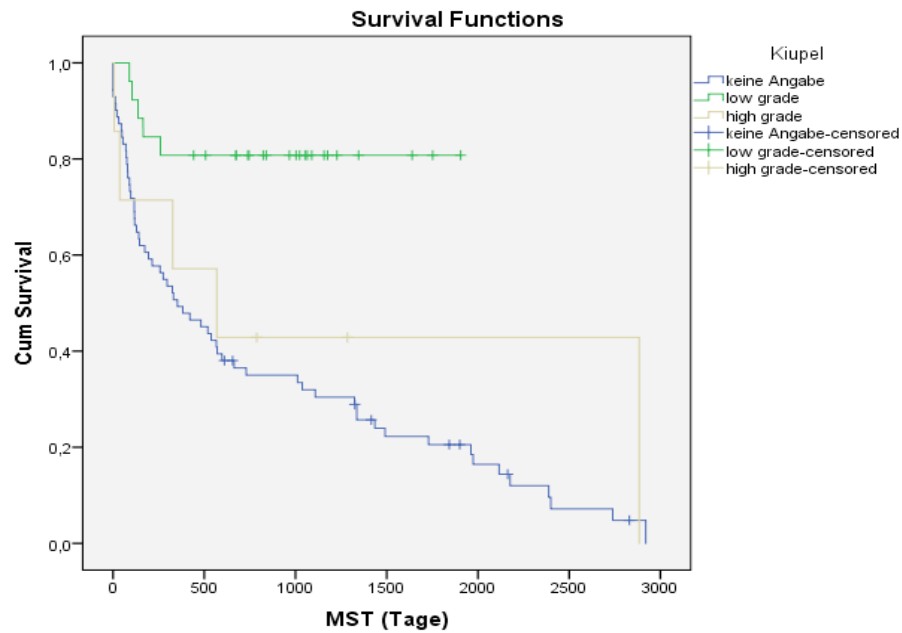
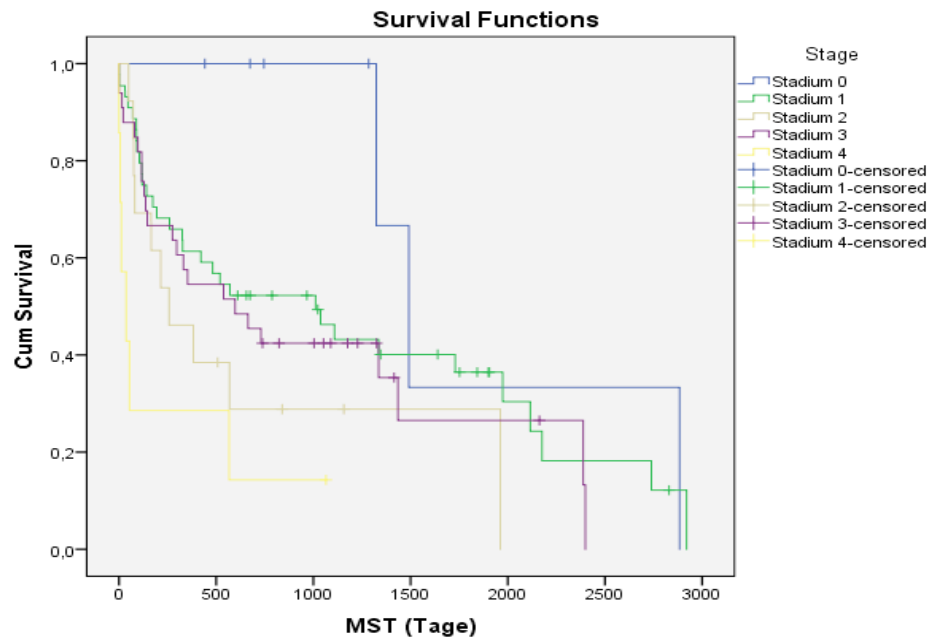
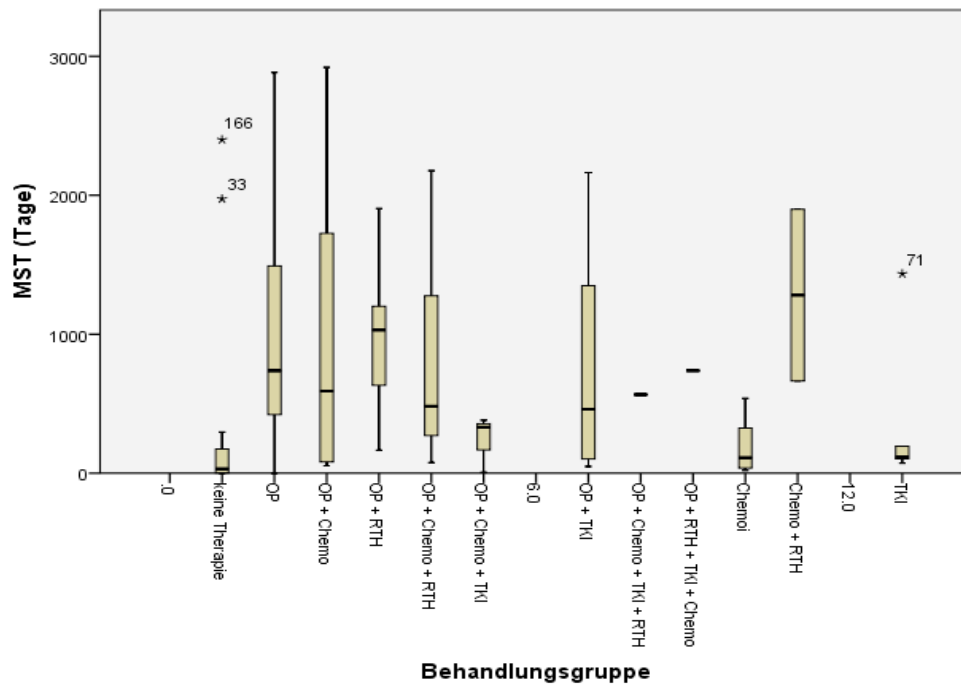


Abbildung 4: Kaplan-Meier-Kurve Einteilung der WHO



Ein Überblick für die MST und die unterschiedlichen Behandlungsgruppen siehe Abb. 5.

Abbildung 5: MST und Behandlungsgruppen



Für eine bessere Einschätzung der prognostischen Qualität der unterschiedlichen Faktoren und adjuvanten Therapien wurde die MST mit verschiedenen Angaben verglichen.

Der Grenzwert für den mitotischen Index wurde hier, wie in der Arbeit von (ELSTON et al., 2009) (KIUPEL et al., 2011), bei 7 festgelegt. Für einen Vergleich des MI mit der MST siehe Tab. 46.

**Tabelle 46: MST und mitotischer Index**

MST (in Tagen)					
Cut-off Mi Index	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
≤ 7	11	829,00	738,00	137	1640
> 7	3	1112,00	382,00	70	2884
total	14	889,64	706,00	70	2884

Bei Ki-67 lag die Grenze bei 23 positiven Zellen pro Netzbereich (WEBSTER et al., 2007). Für eine Übersicht siehe Tab. 47.

**Tabelle 47: MST und Ki67**

MST (in Tagen)					
Cut-off Ki67	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
≤ 23	5	632,20	674,00	137	1003
>23	2	1168,50	1168,50	1052	1285
total	7	785,43	840,00	137	1285

Bei der Angabe einer c-KIT-Veränderung wurde hier nicht zwischen einer Mutation oder einer aberranten Expremierung unterschieden (siehe Tab. 48).

**Tabelle 48: MST und c-KIT**

MST (in Tagen)					
c-KIt	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
Veränderung vorhanden	9	724,89	569,00	49	1962
keine Veränderung vorhanden	6	1237,83	921,50	382	2884
total	15	930,07	840,00	49	2884

Weil sich in dieser Studie auch Hunde befinden, die keine Therapie erhalten haben, konnte hier ein Vergleich mit der MST gezogen werden (siehe Tab. 49).

**Tabelle 49: MST und Behandlungsgruppen**

MST (in Tagen)					
Behandlungsgruppen	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
keine Therapie	13	388,15	31,00	0	2400
OP + adjuvante Therapie	50	851,48	701,00	6	2920
OP	30	1023,13	737,50	0	2884
Chemotherapie	6	190,50	111,00	21	538
Tyrosinkinaseinhibitor	5	384,40	117,00	72	1435
total	104	782,49	567,50	0	2920

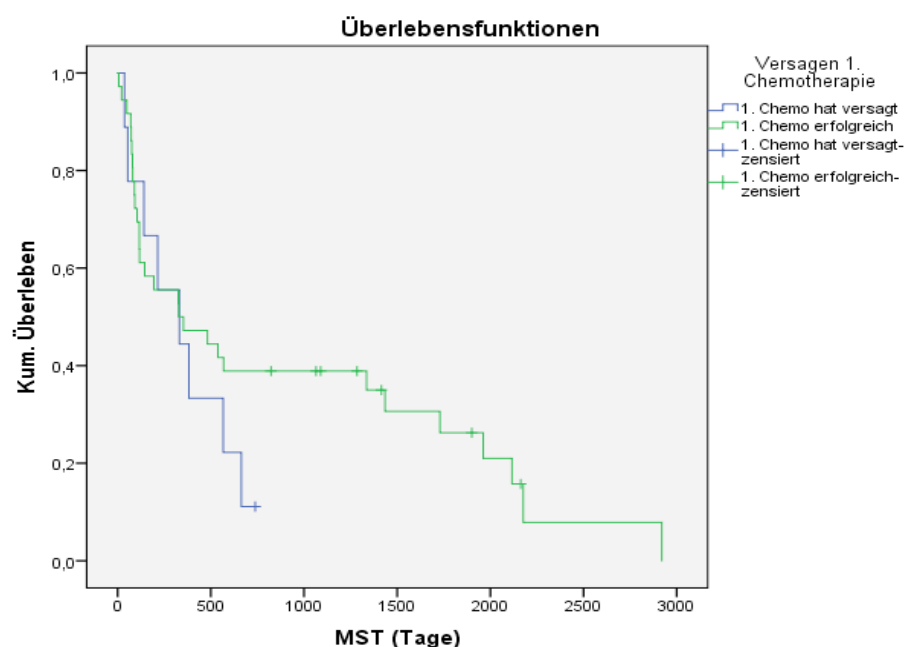
Bei der Betrachtung der mediane Überlebenszeiten von Patienten, die nur mit alleiniger Chemotherapie oder nur mit TKI behandelt wurden, lagen beide Gruppen mit 111 Tagen bzw. 117 Tagen nahezu gleich auf.

Die Patienten mit Chemotherapie wurden im Hinblick auf die MST noch in zwei Gruppen eingeteilt (siehe Abb. 6). Bei Gruppe 1 (n=36) haben die Patienten erfolgreich auf die erste Chemotherapie angesprochen, also mit einer partiellen oder kompletten Remission, in der Gruppe 2 (n=9) blieb die erste Behandlung ohne Erfolg (siehe Tab. 50).

**Tabelle 50: MST und Ansprechen auf 1. Chemotherapie**

MST (in Tagen)					
Ansprechen auf 1. Chemotherapie	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
kein Ansprechen (SD/PD)	9	347,56	331,00	37	738
Ansprechen (PR/CR)	36	762,19	340,00	6	2920
total	45	679,27	331,00	6	2920

Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurve Anzahl der Chemotherapieprotokolle



Hier konnten durch die geringen Fallzahlen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

### 1.21. Disease free interval (DFI)

Bei der statistischen Auswertung wurde die DFI ebenfalls mit den verschiedenen Patientenangaben verglichen (siehe Tab. 51 - 54).

Tabelle 51: DFI und Behandlungsgruppen

DFI (in Tagen)			
Behandlungsgruppe	Mean	Median	Maximum
keine Therapie	885,0	885,0	1405,0
OP	527,1	296,0	1970,0
OP + Chemo	332,1	315,0	740,0
OP + RTH	325,0	260,0	545,0
OP + Chemo + RTH	465,5	173,5	1487,0
OP + Chemo + TKI	180,3	217,0	253,0
OP + TKI	144,9	85,5	399,0
OP + Chemo + TKI + RTH	276,5	276,5	535,0
OP + RTH + TKI + Chemo	57,0	57,0	57,0
Chemotherapie	341,3	88,0	921,0
Chemo + RTH	84,0	84,0	84,0
RTH	28,0	28,0	28,0
TKI	78,3	92,0	104,0
total	347,9	180,0	1970,0

Tabelle 52: DFI und Tumorgrad nach Patnaik

DFI (in Tagen)					
Patnaik	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
keine Angabe	12	292,8	98	18	1405
Grad I	4	391,5	314,5	15	922
Grad I-II	2	993,5	993,5	888	1099
Grad II	22	310,5	144,5	20	1970
Grad II-III	6	125,2	88,5	39	253
Grad III	11	471,2	315	28	1487
total	57	347,9	180	15	1970

Tabelle 53: DFI und Tumorgrad nach Kiupel

DFI (in Tagen)					
Kiupel	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
keine Angabe	43	328,2	180	15	1487
low-grade	12	304,9	190	20	922
high-grade	2	1031	1031	92	1970
total	57	347,9	180	15	1970

Tabelle 54: DFI und WHO-Stadium

DFI (in Tagen)					
Stage	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
Stadium 0	4	589,5	163,5	61	1970
Stadium 1	25	339,8	208	21	1487
Stadium 2	5	77	28	15	253
Stadium 3	18	388,3	220,5	20	1405
Stadium 4	5	321,2	180	59	740
total	57	347,9	180	15	1970

Das DFI wurde auch mit den verschiedenen Ausprägungsformen caniner MCT verglichen (siehe Tab. 55).

Tabelle 55: DFI und Tumorform

DFI (in Tagen)					
MCT Diagnose	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
Hautform	31	355,4	134	15	1970
perineale/ inguinale Form	6	280,2	256,5	18	535
multiple Form	19	370,9	217	20	1405
disseminierte Form	1	88	88	88	88
total	57	347,9	180	15	1970

Im Falle des ersten MCT im Verlauf der Krankengeschichte waren es für das DFI 382,2 Tage und im Falle eines Rezidivs 138,8 Tage im Mittel.

Im Hinblick auf eine Vergrößerung des regionären LK bei der Eingangsuntersuchung lag die krankheitsfreie Zeit im Mittel bei 362,2 Tagen ohne auffällige Lymphknoten (n=39) bzw. bei 317,1 Tagen mit einer Vergrößerung (n=18).

Das DFI wurde ebenfalls bei den verschiedenen Behandlungsoptionen ausgewertet (siehe Tab. 56).

**Tabelle 56: DFI und Behandlungsgruppen**

DFI (in Tagen)					
OP und adjuvante Therapie	N	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
keine Therapie	2	885	885	365	1405
OP + adjuvante Therapie	33	268,8	155	18	1487
OP	15	527,1	296	20	1970
Chemotherapie	3	341,3	88	15	921
Bestrahlung	1	28	28	28	28
Tyrosinkinaseinhibitor	3	78,3	92	39	104
total	57	347,9	180	15	1970

Bei dem Vergleich des DFI mit Patienten, bei denen die erste Chemotherapie erfolgreich (PR oder CR) war, und Hunden, bei denen die erste Chemotherapie ohne Erfolg war (SD oder PD), ergab sich ein DFI von 262 Tagen bzw. 194,7 Tagen als Mittelwert.

## **1.22. Jahresgrenze**

Durch die unterschiedlichen Einteilungs- und Bewertungssysteme, welche sich über die Jahre entwickelt haben, und die meist nicht einheitlichen Angaben sind die Fallzahlen in den jeweiligen Gruppen nicht sonderlich groß. Deshalb wurde bei der statistischen Auswertung von Todesursache und Überlebenszeit ein Jahr nach Diagnose gesondert ausgewertet. Hierbei konnten 104 Hunde bewertet werden.

Todesursache (siehe Tab. 57): Innerhalb des ersten Jahres sind 44 von 104 Hunden verstorben. Davon sind 40 wegen des MCT eingeschláfert worden oder gestorben (90,9 %). Im zweiten Jahr nach Diagnose sind 13 von 29 Hunden durch den MCT verstorben.

Tabelle 57: Jahresgrenze und Todesursache

			Jahresgrenze		total
			1	2	
Todesursache	lebt noch	Count	0	31	31
		% within Jahresgrenze	0,00%	51,70%	29,80%
	Mastzelltumor	Count	40	9	49
		% within Jahresgrenze	90,90%	15,00%	47,10%
	Mastzelltumor- metastase	Count	2	4	6
		% within Jahresgrenze	4,50%	6,70%	5,80%
	anderer Tumor	Count	0	5	5
		% within Jahresgrenze	0,00%	8,30%	4,80%
	andere Ursache	Count	2	11	13
		% within Jahresgrenze	4,50%	18,30%	12,50%
total	Count	44	60	104	
	% within Jahresgrenze	100,00%	100,00%	100,00%	

MST (siehe Tab. 58): Bei Tieren, die im ersten Jahr starben, lag die MST bei 94,5 Tagen und bei Hunden ab dem zweiten Jahr waren die medianen Überlebenszeiten bei 1099 Tagen.

Tabelle 58: Jahresgrenze und MST

MST (in Tagen)						
Jahresgrenze	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1	44	120,8	103,3	94,5	0	353
2	60	1267,7	687,5	1099	382	2920
total	104	782,5	774,2	567,5	0	2920

Tumorgroße (siehe Tab. 59): Tiere, die ihrem Tumorleiden innerhalb des ersten Jahres erlagen, hatten eine mediane Tumorgroße von 2,9 cm. Ab dem zweiten Jahr waren es median 2,0 cm im Mittel.

Tabelle 59: Jahresgrenze und Tumorgroße

Tumorgroße (in cm)						
Jahresgrenze	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1	30	5	6,3	2,9	0,3	24
2	33	2,3	1,5	2	0,4	6,8
total	63	3,6	4,6	2,2	0,3	24

Regionärer Lymphknoten (siehe Tab. 60): Bei einem Versterben im ersten Jahr waren bei 17 von 44 Hunden die regionären LK zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung an der MTK vergrößert (38,6 %). Im zweiten Jahr wurde eine Vergrößerung bei 10 von 60 Tieren vermerkt (16,7 %).



Tabelle 60: Jahresgrenze und Vergrößerung des regionären Lymphknotens

		Jahresgrenze		total
		1	2	
regionaler LK vergrössert	nein	Count	27	77
		% within Jahresgrenze	61,40%	74,00%
	ja	Count	17	27
		% within Jahresgrenze	38,60%	26,00%
total		Count	44	104
		% within Jahresgrenze	100,00%	100,00%

Juckreiz + Entzündung (siehe Tab. 61): Diese Symptome zeigten sich bei 18 von 44 Patienten (40,9 %), die innerhalb des ersten Jahres verstarben, und bei 13 von 60 (21,7 %) im zweiten Jahr.

Tabelle 61: Jahresgrenze und Juckreiz/Entzündung

		Jahresgrenze		total
		1	2	
Juckreiz, Entzündung	nein	Count	26	73
		% within Jahresgrenze	59,10%	70,20%
	ja	Count	18	31
		% within Jahresgrenze	40,90%	29,80%
total		Count	44	104
		% within Jahresgrenze	100,00%	100,00%

## V. DISKUSSION

In der vorliegenden Studie wird die Behandlung von MCT des Hundes an der MTK zwischen den Jahren 2006 und 2015 beschrieben. Hier war es möglich, zentral an einem Ort verschiedene Therapieoptionen, die für diese Tumorart in Frage kommen, miteinander zu vergleichen.

Die im Rahmen dieser Untersuchung ermittelten Ergebnisse zum Durchschnittsalter und dem mittleren Gewicht entsprechen den Daten aus anderen bisher publizierten Studien und Lehrbüchern (MACY, 1985) (MISDORP, 2004) (LONDON & THAMM, 2013).

Das mittlere Alter der 198 Patienten zum Zeitpunkt der Vorstellung in der Klinik lag bei 8,7 Jahren (min.: 2 Monate, max.: 15 Jahre) mit einem mittleren Körpergewicht von 25,3 kg (min.: 3,9 kg, max.: 54,6 kg). Eine Geschlechtsprädisposition für diese Tumorart konnte nicht nachgewiesen werden. Im Vergleich mit der Gesamtpopulation an Hunden, die im gleichen Zeitraum an der MTK behandelt wurden, waren Labrador Retriever, Golden Retriever und Shar Pei signifikant häufiger vertreten als andere Hunderassen. Ebenfalls überproportional häufig waren Boxer und Möpse vorstellig, jedoch reichten die Fallzahlen hier nicht für eine Signifikanz aus. Die genannten Hunderassen sind bekannte Beispiele für eine Rasseprädisposition für MCT. So wurden diese Rassen schon in anderen europäischen Studien dokumentiert (WARLAND & DOBSON, 2013) (LEIDINGER et al., 2014).

Die meisten MCT der vorliegenden Studie waren im Bereich der Extremitäten lokalisiert (65/198; 32,8 %). Es folgten multiple MCT (51/198; 25,8 %) und Tumoren an Kopf, Hals oder Rute (31/198; 15,7 %). In der Literatur werden MCT insgesamt mit einer in etwa gleichmäßigen Verteilung über den gesamten Körper beschrieben (HOTTENDORF & NIELSEN, 1969). In anderen Berichten wurden die häufigsten Lokalisation am Rumpf (50–60 %), an den Extremitäten (25–40 %) sowie im Bereich von Kopf und Nacken (10 %) gesehen (WELLE et al., 2008) (LONDON & THAMM, 2013). Die diesbezüglichen Ergebnisse der vorliegenden Studie stimmen mit den Fallzahlen mit Tumoren an den Extremitäten und im Bereich des Kopfes, die in der Literatur angegeben werden, in etwa überein. Im Gegensatz zu anderen Studien konnten aktuell jedoch weniger Tumoren im

Bereich des Rumpfes vermerkt werden (26/198; 13,1 %: an der Bauchwand in 10 Fällen, an der Brustwand in 16 Fällen). Multiple MCT des Hundes wurden in der vorliegenden Untersuchung in 25,8 % der Fälle bei Vorstellung notiert, in älteren Studien wurde aber nur bei 11–14 % der Patienten von multiplen MCT berichtet (PELT et al., 1986) (MULLINS et al., 2006). Diese Zahl kann mit dem hohen Anteil an Überweisungen an die Spezialabteilung Onkologie der MTK zusammenhängen. Dies zeigt aber auch, dass eine ausführliche Untersuchung des Hundes auf weitere Tumoren anzuraten ist.

Zum Zeitpunkt der Vorstellung an der MTK wurde in dieser Studie bei 74 von 198 Hunden (37,4 %) ein paraneoplastisches Syndrom dokumentiert, welches sich entweder als Juckreiz oder Entzündung im Bereich des Tumors (28,8 %) oder mit Erbrechen (8,6 %) und Durchfall (7,1 %) gezeigt hat. Bei Sektionen von Hunden mit MCT konnten Fox und Kollegen bei 80 % Ulzerationen der Magen- oder Duodenalschleimhaut feststellen (FOX et al., 1990). Eine unterstützende Therapie mit H1- und H2-Rezeptorblockern scheint aufgrund dieser Zahlen indiziert. Mit diesen Maßnahmen konnten die Symptome gut behandelt werden. Inwieweit der Durchfall mit dem Auftreten des MCT zusammenhängt, konnte bei den meisten Patienten retrospektiv nicht differenziert werden, da bekannte Futtermittelallergiker und auch Hunde mit Allotriophagie unter den Patienten waren.

Bei der Anwendung der beiden histologischen Gradingssysteme bestätigte sich für das System nach Patnaik die Einschätzung, dass die Mehrheit der Tumoren mit Grad II oder schlechter eingestuft werden (PREZIOSI et al., 2007) (HAHN et al., 2008). Hier waren insgesamt 121/152 Hunde (79,6 %) in dieser Gruppe. Patienten mit einem Tumorgrad von II-III oder schlechter nach Patnaik hatten ein deutlich höheres Rezidivrisiko und lebten im Mittel auch kürzer als Hunde mit Grad I-Tumoren (538 Tage vs. 236,5 Tage), was damit den Ergebnissen anderer Studien entspricht (PATNAIK et al., 1984) (HUME et al., 2011). Bei der Auswertung der Todesursache zeigte sich, dass noch 31/105 (29,5 %) Patienten zum Studienende am Leben waren und 56/105 (53,3 %) am MCT oder einer MCT-Metastase (50 vs. 6 Hunde) verstorben sind. Von den Patienten, die direkt wegen des MCT eingeschläfert wurden, hatten 19 Tiere (38 %) einen Tumorgrad von II-III oder schlechter. Bei den als schwierig einzuschätzenden Grad II-Tumoren zeigt sich in dieser Studienpopulation, dass noch 22/37 (59,5 %) Hunde mit Grad II-Tumoren

am Leben sind und 4/37 (10,8 %) an einer Metastase verstarben. Diese beiden Werte belegen, dass eine gute Chance auf Heilung bzw. eine lange tumorfreie Zeit mit den aktuellen Behandlungsmethoden erreicht werden kann. Allerdings kann es, wie von Blackwood et al. beschrieben, bei 5 – 22 % zu einer Metastasierung kommen (BLACKWOOD et al., 2012).

Das 2-stufige System nach Kiupel wurde ab 2011 bei insgesamt 33 Hunden angewendet. Im Vergleich mit der Todesursache sind von 26 low-grade-Tumoren am Studienende fünf Hunde an den Folgen des MCT verstorben und von sieben high-grade-Tumoren sind vier Hunde durch den MCT verstorben. Allerdings sind die Fallzahlen für eine statistisch belastbare Aussage deutlich zu klein und auch ein Vergleich mit dem System nach Patnaik fällt hier somit schwer.

Über eine mögliche höhere Aggressivität „multipler MCT“ gibt es in der Literatur verschiedene Studienberichte (MCCAW et al., 1994) (GERRITSEN et al., 1998) (CAHALANE et al., 2004) (KIUPEL et al., 2005) (MULLINS et al., 2006) (MURPHY et al., 2006) (SCASE et al., 2006) (PREZIOSI et al., 2007) (CAMPS-PALAU et al., 2007) (THOMPSON et al., 2011) und anhand der Überlebenszeiten in Verbindung mit dem Tumorgrad zeigte sich in der vorliegende Studie ein tendenziell kürzeres Überleben als bei solitären, kutanen MCT (691,1 Tage vs. 837,5 Tage). Somit können mit den Fallberichten hier die Studien von Kiupel et al. (KIUPEL et al., 2005) und Preziosi et al. (PREZIOSI et al., 2007) bestätigt werden. Es konnte auch eine schlechtere Prognose für die perineal / inguinal auftretenden MCT in Verbindung mit dem Tumorgrad aufgezeigt werden, was Erfahrungen aus der Vergangenheit belegt (CAHALANE et al., 2004) (SFILIGOI et al., 2005). Der histologische Tumorgrad bleibt somit weiterhin der wichtigste Parameter für die Prognose eines MCT, sollte aber in Zukunft immer mit weiteren prognostischen Markern ergänzt werden (SABATTINI et al., 2015) (STEFANELLO et al., 2015).

Generell hatten über den gesamten Zeitraum der Beobachtung 78/198 (39,3 %) aller Hunde ein Rezidiv des MCT. Retrospektiv konnte hier nicht zwischen tatsächlichen Rezidiven, einem neuen MCT oder Metastasen unterschieden werden. Dieses Problem stellt sich auch in der Literatur. Hier gibt es in verschiedenen Studien unterschiedliche Definitionen der Rezidivformen, lokal oder entfernt (LADUE et al., 1998) (JAFFE et al., 2000) (WEISSE et al., 2002) (DAVIES et al., 2004) (SEGUIN et al., 2006) (POIRIER et al., 2006). Wie auch

hier wurden in den meisten Studien keine Zeitangaben zum Auftreten der Rezidive gemacht. In Studien mit den drei häufigsten Therapieformen Chirurgie, adjuvante RTH oder Chemotherapie liegt die Rezidivrate zwischen 18 – 35 % und bestätigt damit die vorliegenden Ergebnisse (BOSTOCK, 1973) (SIMOES et al., 1994) (LADUE et al., 1998) (ABADIE et al., 1999) (THAMM et al., 1999) (JAFFE et al., 2000) (SEGUIN et al., 2001) (CHAFFIN & THRALL, 2002) (MICHELS et al., 2002) (WEISSE et al., 2002) (BAKER-GABB et al., 2003) (DAVIES et al., 2004) (MURPHY et al., 2004) (NORTHRUP et al., 2004) (SIMPSON et al., 2004) (KIUPEL et al., 2005) (SFILIGOI et al., 2005) (MULLINS et al., 2006) (POIRIER et al., 2006) (SEGUIN et al., 2006) (THAMM et al., 2006) (SPUGNINI et al., 2011) .

Generell zeigte sich hier ein höherer Tumorgrad nach Patnaik oder Kiupel als nachteilig für die Rezidivrate und bestätigt damit auch die bisherigen Erfahrungen (BLACKWOOD et al., 2012).

Für das Staging der Patienten wurde bei 118 Tieren ein Röntgenbild des Thorax gemacht und 98,3 % dieser Patienten hatten keine Veränderungen zum Zeitpunkt der Untersuchung. Bei der ultrasonographischen Untersuchung des Abdomens, v. a. von Leber und Milz, waren hier 85,8 % ohne besonderen Befund.

In Studien hat sich die Anwesenheit von Fernmetastasen zu Therapiebeginn als nachteilig für die Gesamtprognose gezeigt (BOOK et al., 2011) (HUME et al., 2011). Die Ergebnisse dabei sind nicht immer eindeutig (STEFANELLO et al., 2009), aber ultrasonographische Veränderungen von Leber und Milz hatten in Studien eine hohe Übereinstimmung mit den Ergebnissen einer FNA dieser Organe (SATO & SOLANO, 2004) (BOOK et al., 2011). Röntgenaufnahmen des Thorax zeigen nur in den seltensten Fällen eine Metastasierung des MCT (LONDON & THAMM, 2013), sind aber dennoch zu empfehlen, um andere Erkrankungen auszuschließen.

Eine FNA wurden in der vorliegenden Studienpopulation bei der Milz bei 30,3 % (n = 60) und bei der Leber bei 23,7 % (n = 47) durchgeführt. Metastasen der Leber wurden so bei drei Hunden gefunden, bei der Milz waren es acht Patienten und beide Organe waren bei zwei Tieren betroffen. Feinnadelaspirationen von ultrasonographisch unveränderten Organen werden oft nicht durchgeführt (SLEDGE et al., 2016), jedoch empfehlen verschiedene Studien den Einsatz

dieser Untersuchungsmethoden auch bei ultrasonographisch normal erscheinenden Organen (FINORA et al., 2006) (STEFANELLO et al., 2009). Für Patienten mit Lymphknotenmetastasen ist eine Aspiration von Leber und Milz, ganz unabhängig ihres Aussehens, zwingend erforderlich (BLACKWOOD et al., 2012). Eine Aussage über eine mögliche Metastasierung in den regionären LK stellt sich etwas komplizierter dar. Hier wurde bei 38/198 (19,2 %) Tieren eine FNA der regionären LK genommen und bei 26 Hunden wurde anhand der Aufzeichnungen eine Metastase diagnostiziert. Einer neuen Studie zufolge ist es meist nicht einfach, den LK mit dem höchsten metastatischen Risiko zu identifizieren, und so waren in einer Studie von Worley und Kollegen bei 42 % der Hunde MCT-Metastasen in LK, die sich nicht in der anatomisch nächsten Lage zum Tumor befanden (WORLEY, 2014). Zudem ist es oftmals schwierig, neoplastische Mastzellen von physiologisch vorkommenden Mastzellen in Lymphknotenaspiraten zu unterscheiden. Für eine Einschätzung von Mastzelltumormetastasen in LK haben Studien Feinnadelaspirate und Biopsien von LK verglichen (KRICK et al., 2009) (WEISHAAR et al., 2014). Mit diesen Ansätzen kann in Zukunft die Einschätzung über eine Metastasierung des MCT in den LK weiter verbessert werden, vor allem im Hinblick auf den bisherigen Unterschied zwischen einer zytologischen und einer histologischen Untersuchung des LK (SLEDGE et al., 2016). Gesamt hatten hier 79,8 % der Hunde zum Zeitpunkt der Untersuchung keine feststellbaren Metastasen. Dieses Ergebnis spiegelt auch hier die aktuelle Lehrmeinung wider (BLACKWOOD et al., 2012). Durch die Beurteilung von Lymphknotenmetastasen werden die Patienten nach dem System der WHO in verschiedene Stadien eingeteilt, und dies kann schon allein für die Beurteilung der Überlebenszeiten wichtig sein. Der Unterschied zwischen Stadium 1 (ohne LK-Metastasen) und Stadium 2 (mit LK-Metastasen) war in einer Studie 6,2 gegen 0,8 Jahre (HAYES et al., 2007). Hier lag die MST für Stadium 1 bei 1011 Tagen (n=44) und bei Stadium 2 bei 258 Tagen (n=13). Bei Patienten im Stadium 4, mit Fernmetastasen oder Tumorrezidiv mit Metastasen, lag das MST in dieser Studie dann nur noch bei 37 Tagen.

Mit der Zulassung der beiden TKI Toseranib und Masitinib spielt die Tyrosinkinase KIT bei der Prognose von caninen MCT eine immer wichtigere Rolle. In den Aufzeichnungen konnten nur bei 27 Patienten verwertbare Angaben über dieses Protein gefunden werden. Aufgrund der vorherrschenden Angabe c-

KIT „positiv“ oder „negativ“ war es schwer möglich, zwischen einer Mutation oder einem abnormalen Expressionsmuster zu unterscheiden. Die Daten der Hunde sind bedingt durch die geringe Fallzahl nicht signifikant, sie unterstützen jedoch die Einschätzungen aus der Literatur für schlechtere Überlebenszeiten und eine kürzere krankheitsfreie Zeit mit Vorliegen einer Veränderung der Tyrosinkinase KIT (REGUERA et al., 2000) (ZEMKE et al., 2002) (WEBSTER et al., 2006). Von den 27 Hunden mit einer Veränderung von KIT hatten 25 einen Tumorgrad nach Patnaik von II oder schlechter. Damit wurde der Eindruck von Downing und Mitarbeitern bestätigt, dass insbesondere Patienten mit einem höheren Tumorgrad von einer Veränderung dieses Proteins betroffen sind (DOWNING et al., 2002). Weitere Faktoren sind über den Studienzeitraum hinweg relativ selten eingeleitet worden, sodass dazu kaum Ergebnisse vorliegen. Der mitotische Index wurde insgesamt bei 26 Hunden angegeben. Der Grenzwert wurde anhand der Erfahrungen von Elston et al. (ELSTON et al., 2009), Kiupel et al. (KIUPEL et al., 2011) und van Lelyveld et al. (VAN LELYVELD et al., 2015) bei einem MI von 7 festgelegt. Hier war es so, dass in der Gruppe  $MI > 7$  ( $n=4$ ) die Patienten kürzere Überlebenszeiten hatten, 382 Tage gegen 738 Tage für die Gruppe  $MI \leq 7$ . Daher bestätigt sich der Eindruck, dass ein hoher MI mit einer schlechten Prognose vereinbar ist. Für Ki-67 waren hier nur bei elf Tieren Angaben zu finden und der Grenzwert lag bei 23 positiven Zellen pro Blickfeld (WEBSTER et al., 2007). Hier waren die Patienten mit einem höheren Ki-67-Index bei der medianen Überlebenszeit im Vorteil (1168,5 Tage vs. 674 Tage) und damit im Widerspruch zu den Ansätzen aus der Literatur (WEBSTER et al., 2007) (MAGLENNON et al., 2008) (VASCELLARI et al., 2013). Im Detail konnten von den fünf Hunden mit einem Ki-67-Index  $> 23$  aber nur zwei bis zu ihrem Lebensende verfolgt werden. Tumorgrade nach Patnaik waren hier 5x Grad II und 1x Grad III. Auf eine kombinierte Betrachtung von MI und Ki-67 wurde aufgrund zu niedriger Fallzahlen verzichtet. Zusammenfassend bedeuten diese Ergebnisse eine Verbesserung der prognostischen Aussage für den Verlauf eines MCT, immer in Verbindung mit dem histologischen Tumorgrad. In Zukunft werden weitere umfassende Angaben über die einzelnen prognostischen Faktoren sicher eher die Regel als eine Ausnahme sein, insbesondere dann, wenn einheitliche Standards zu deren Bewertung festgelegt werden und eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegeben ist.

Mit der Zeit wurden immer weitere Behandlungsmöglichkeiten für diese Tumorart entwickelt und etabliert, sodass sich in dieser Studie viele verschiedene Behandlungsgruppen ergeben haben. Durch die fehlende Standardisierung fällt hier ein direkter Vergleich schwer und eine Empfehlung für die Zukunft kann nicht ausgesprochen werden, da die Behandlung für jeden Patienten individuell entschieden wurde. Mit der Aufnahme von Tieren, bei denen sich der Besitzer gegen eine Therapie entschieden hat, war es möglich zu zeigen, dass jede Form der Therapie eine bessere Überlebenszeit zum Ergebnis hat als eine Nichtbehandlung des Patienten. Insgesamt waren es 13 Hunde, die nicht therapiert wurden und deren Überlebenszeit ermittelt werden konnte. Die MST für Patienten ohne Therapie lag hier bei 31 Tagen. Bei Hunden, die behandelt wurden, konnten mediane Überlebenszeit von 111 bis 737,5 Tagen, je nach Therapie, verzeichnet werden. Daraus ist zu schließen, dass jede Art der Therapie, auch unabhängig von sauberen OP-Rändern, für den Patienten eine Verbesserung ermöglicht (KRY & BOSTON, 2014) (SLEDGE et al., 2016). Dabei ist natürlich stets die Lebensqualität des Tieres zum Zeitpunkt der Vorstellung und Behandlung entscheidend. Die grundlegende Therapieform eines kutanen MCT ist und bleibt eine weite chirurgische Exzision.

Die Planung einer chirurgischen Entfernung eines MCT hat sich über die letzten Jahre mehr und mehr weiterentwickelt, und viele Studie konnten zeigen, dass MCT von Grad I und II schon mit deutlich weniger als einem Rand von 3 cm entfernt werden können (SIMPSON et al., 2004) (FULCHER et al., 2006) (SCHULTHEISS et al., 2011) (PRATSCHKE et al., 2013). In der vorliegenden Studienpopulation hatten 30/158 (19 %) saubere OP-Ränder, bei 7/158 (7 %) reichten Tumorzellen bis knapp an den Rand und 75/158 (47,5 %) hatten unsaubere Ränder nach der chirurgischen Versorgung. Die hier sehr hohe Zahl an „dirty margins“ hängt sehr wahrscheinlich damit zusammen, dass viele Hunde bei ihrem Haustierarzt operiert wurden, ohne dass vorher eine genau Abklärung der Umfangsvermehrung vor der OP erfolgte, und erst die Histologie die Diagnose MCT lieferte und die Tiere zur adjuvanten Therapie in der Abteilung für Onkologie vorstellig wurden. Des Weiteren kommt dazu, dass bei der genauen Auswertung 36/75 (48 %) Tumoren mit schmutzigen OP-Rändern im Bereich der Extremitäten und des Kopfes lokalisiert waren. Hier ist eine Entfernung komplett im Gesunden ohne eine exakte präoperative Planung nur schwer oder gar nicht



erreichbar. Wie schon 2014 bei Kry und Boston (KRY & BOSTON, 2014), so zeigte sich auch hier, dass durch eine Operation und, falls notwendig, im Anschluss weitere Therapien (erneute OP oder Bestrahlung oder Chemo) bessere Überlebenszeiten der Tiere erzielt werden konnten als ohne eine Operation des MCT. Die Rezidivrate post Chirurgie liegt hier bei 58/152 Hunden (38,2 %) und damit im Bereich der Studie von Kry et al. (KRY & BOSTON, 2014). Dieser hohe Anteil resultiert abermals aus dem hohen Anteil an Überweisungen.

Als first-line-Chemotherapie wurde in dieser Studie am häufigsten die Kombination aus Vinblastin und Prednisolon eingesetzt. Darauf folgten dann schon die Protokolle mit den beiden TKI Toceranib und Masitinib. Die Überlebenszeiten lagen für die TKI hier median bei 117 Tagen und damit deutlich kürzer als in anderen Studien (LONDON et al., 2003) (LONDON et al., 2009) (HAHN et al., 2010). Bei der Auswertung der Überlebenszeiten konnten hier jedoch nur fünf Patienten ausgewertet werden und die Minimal- und Maximalwerte liegen sehr weit auseinander. Für die alleinige Chemotherapie lagen die MST mit 111 Tagen etwas kürzer als die Erfahrungen aus der Literatur (CAMPS-PALAU et al., 2007) (TAYLOR et al., 2009) (BOOK et al., 2011). Hier wurde jedoch kein Unterschied für die Art des MCT vorgenommen.

Bei Betrachtung der verschiedenen Protokolle ist aufgefallen, dass sich bei einem Versagen der ersten Chemotherapie die Überlebenszeiten des Patienten deutlich verkürzten. So hatten Patienten, die nur mit einem Protokoll behandelt wurden, eine MST von 762,2 Tagen. Hunde mit zwei oder drei Protokollen hatten nur noch eine MST von 393,5 bzw. 171,3 Tagen. Dieses Ergebnis ist sicher nicht verwunderlich, da davon auszugehen ist, dass es sich dabei um besonders Chemotherapie-resistente und aggressive Tumorformen gehandelt haben muss.

Mit der Beurteilung der NW auf eine Therapie mit Chemotherapeutika oder TKI anhand der Kriterien der Veterinary Comparative Oncology Group (VCOG, 2016) hatten 54,6 % der Hunde keinerlei NW durch die Behandlung. Falls es zu NW gekommen ist, so waren diese in den allermeisten Fällen von einem Grad I und durch symptomatische Therapie schnell in den Griff zu bekommen. Die häufigsten Vertreter waren dabei geringgradige Neutropenien (28,8 %) und gastrointestinale NW (15,9 %). Nur in Ausnahmefällen waren eine Therapieunterbrechung und ein Klinikaufenthalt erforderlich. Somit bestätigte sich die gute Verträglichkeit dieser Therapieform aus der Literatur (DAVIES et

al., 2004) (THAMM et al., 2006) (HAHN et al., 2008) (LONDON et al., 2009) (BERNABE et al., 2013).

Im Vergleich der beiden Protokolle fiel auf, dass mit der kurativen RTH längere Überlebenszeiten (916,8 Tage gegen 260 Tage) und ein besseres DFI (253,5 Tage gegen 102 Tage) als mit dem palliativen Protokoll erreicht werden konnten. Diese Ergebnisse verdeutlichen den Nutzen einer adjuvanten RTH als zusätzliche lokale Therapie nach einer Operation, und da die meisten kurativ bestrahlten Tumoren hier von Grad II nach Patnaik waren, konnten die gute lokale Kontrollmöglichkeit von MCT aus anderen Studien und die hohe Strahlensensitivität dieser Tumorart bestätigt werden (AL-SARRAF et al., 1996) (FRIMBERGER et al., 1997) (POIRIER et al., 2006). Bei inkompletter Resektion und keiner Möglichkeit für eine erneute OP stellt die adjuvante Bestrahlung anhand dieser Ergebnisse und der Erfahrungen aus der Literatur eine gute lokale Therapieoption dar.

Die Strahlennebenwirkungen sind bei der kurativen RTH mit 15 Sitzungen häufiger als bei palliativen Protokollen (20/37 vs. 2/6) und in ihrem Ausmaß ausgeprägter. Die häufigste NW ist eine nässende Desquamation im bestrahlten Bereich. Diese Symptome heilen innerhalb kurzer Zeit unter symptomatischer Therapie ohne Komplikationen ab (LADUE & KLEIN, 2001; CHAFFIN & THRALL, 2002) und beeinträchtigen den Patienten bei konsequenter Behandlung nur wenige Tage.

Response und Outcome der Therapie wurden anhand der Aufzeichnungen in den Krankenakten der Patienten ausgewertet. Nach der ersten Therapie zeigte sich bei 137/171 (80,1 %) ein messbares Ansprechen auf die Behandlung, CR oder PR, und bei 34/171 (19,9 %) blieb die Therapie ohne Erfolg, SD oder PD. Durch die hohe Strahlensensitivität von MCT kann, nach einer inkompletten Resektion, auch eine adjuvante RTH eine CR über einen längeren Zeitraum ermöglichen (THRALL & DEWHIRST, 1985) (MACY, 1986) (AL-SARRAF et al., 1996) (FRIMBERGER et al., 1997) (LADUE et al., 1998). Mit den beiden Therapieoptionen OP und RTH konnte hier, vor allem für die kutanen MCT, ein sehr gutes Ansprechen gezeigt werden. Bei der Beurteilung des letztendlichen Outcomes für den Patienten wurden ebenfalls die Aufzeichnungen beim letzten Besuch oder die Informationen aus den Telefonaten herangezogen. Bei etwas mehr als der Hälfte der Patienten war der MCT immer noch in Remission. Wie auch schon in verschiedenen Studien gezeigt wurde (BAKER-GABB et al., 2003) (FULCHER et al., 2006) (POIRIER et al., 2006), kommt es auch hier bei 35 %

der Fälle zu einer Verschlechterung im Verlauf des Studienzeitraumes.

Bei der Erhebung der letztendlichen Todesursache konnte diese bei 74 von 198 Hunden (37,4 %) ausgewertet werden. An den direkten Folgen eines MCT sind 56 von 74 Hunden (75,7 %) verstorben, wobei bei 6 von 56 Patienten (10,7 %) eine Metastasierung die Todesursache war. Andere Tumoren und gänzlich andere Ursachen als eine Neoplasie waren bei 4,8 % bzw. 12,4 % der Hunde die Todesursache. In der Studie von Smith und Mitarbeitern sind mit Grad II-MCT nach Patnaik 10 % der Patienten aufgrund der Neoplasie gestorben (SMITH et al., 2015). Generell liegt die Todesfolge durch einen MCT beim Hund in der Literatur je nach Studie zwischen 9 % und 61,5 % (BAKER-GABB et al., 2003; KIUPEL et al., 2004; KIUPEL et al., 2005; MULLINS et al., 2006; HILLMAN et al., 2010; KIUPEL et al., 2011; THOMPSON et al., 2011; GIANTIN et al., 2012). Mit diesen Werten reiht sich die von uns durchgeführte Studie in den bereits bekannten Bereich ein und zeigt, dass die Tiere aufgrund der lokalen Probleme durch die Neoplasie und auch in Folge einer Metastasierung versterben können.

Median lag die Überlebenszeit aller Patienten dieser Studie bei 567,5 Tagen. In Studien mit Hunden, die nur chirurgisch versorgt wurden, lagen die Zeiten bei gut bis mittelgradig differenzierten Tumoren zwischen 252 und 560 Tagen, bei schlecht differenzierten Tumoren im Bereich von 91 bis 280 Tagen (BOSTOCK et al., 1989) (MURPHY et al., 2004). Generell sind die Überlebenszeiten nach chirurgischer Resektion in der Literatur über einen breiten Bereich verteilt und liegen zwischen 112 und 2092 Tagen (FOX et al., 1990) (WEISSE et al., 2002) (SIMPSON et al., 2004) (FULCHER et al., 2006) (SEGUIN et al., 2006) (CAMPS-PALAU et al., 2007) (STREFEZZI RDE et al., 2009). Miller und Kollegen hatten 2014 in ihrer Studie mit high-grade-Tumoren eine MST von 304 Tagen, wobei Patienten mit Operation und adjuvanter Therapie deutlich länger lebten als Hunde, die nur mit einer systemischen Therapie behandelt wurden, 278 Tage und 91 Tage (MILLER et al., 2014). Im Falle einer adjuvanten RTH steigt die MST in der Literatur auf median 910 Tage (TURREL et al., 1988; LADUE et al., 1998; HAHN et al., 2004) und unterstreicht damit eine bessere lokale Kontrolle des Tumorgeschehens. Mit adjuvanter Chemotherapie ist in Studien die MST bei 257 Tagen (HUME et al., 2011) und belegt so die deutlich höhere Malignität von Grad III MCT. Bei der MST konnten in der vorliegenden Studie im Vergleich mit dem MI bei den Medianwerten für die beiden Gruppen  $\leq 7$

und  $> 7$  ähnliche Tendenzen wie in der Literatur gezeigt werden und den prognostischen Wert, den Elston und Mitarbeiter im Jahr 2009 gezeigt haben, bestätigen (ELSTON et al., 2009). Insgesamt waren Minimal- und Maximalwerte aber weit auseinander und die Fallzahlen zu gering für eine Signifikanz. Ähnliches war auch bei dem Vergleich mit der c-KIT-Veränderung der Fall. In der Aufstellung nach den unterschiedlichen Therapieoptionen schnitten die Hunde, die nur mit einer Operation versorgt wurden (MST 737,5 Tage), auf den ersten Blick am besten ab. Patienten mit OP und jeglicher Art adjuvanter Therapie hatte eine MST von 701 Tagen. Es muss hierbei jedoch bedacht werden, dass die Entscheidung über die individuelle Behandlung eines jeden Patienten in dieser Studie nicht zufällig gewählt wurde, und vielleicht wären Patienten aus dieser Gruppe ohne zusätzliche Therapie schon früher verstorben, denn die adjuvante Therapie wurde aufgrund ungünstiger prognostischer Faktoren durchgeführt. Bei der vereinfachten Aufteilung in Patienten mit oder ohne Therapie lagen die Medianwerte bei 655 und 31 Tagen. Dies zeigt, dass sich jede Form der Therapie eines MCT für den Patienten auszahlen kann, wobei zu berücksichtigen ist, dass einzelne Patienten aufgrund des fortgeschrittenen Stadiums und einer sehr schlechten Prognose gar nicht therapiert wurden. Für Patienten, bei denen die erste Chemotherapie nicht anschlagen konnte, waren die Medianwerte mit 331 Tagen ähnlich wie bei Hunden, die positiv reagiert haben (MST 340 Tage). Ein Wechsel der Chemotherapie nach Versagen der ersten, könnte demnach dennoch zu einer Lebensverlängerung führen.

Die krankheitsfreie Zeit von Hunden mit einem MCT lag in der vorliegenden Studie median bei 180 Tagen. In einer aktuellen Studie war das mediane DFI bei 68 Hunden mit einem Grad II-MCT und niedrigen Proliferationsmarkern bei 1791 Tagen, unabhängig von den chirurgischen Tumorrändern (SMITH et al., 2017). Das DFI konnte in der vorliegenden Studie nur bei 57 von 198 Hunden erhoben werden und die Minimal- und Maximalwerte sind über einen sehr weiten Bereich verteilt (15 bis 1970 Tage). Durch die relativ niedrige Patientenzahl mit Angabe des DFI fällt ein Vergleich mit anderen Studien diesbezüglich schwer. Zudem handelt es sich bei der vorliegenden Patientenpopulation um ein gewisses selektiertes Patientengut, denn Hunde mit einer erfolgreich operativen Therapie ihres MCT werden durch ihren Haustierarzt eher nicht in die Abteilung für Onkologie der MTK überwiesen. Bei den Vergleichen des DFI mit den

unterschiedlichen Tumorgraden, Patnaik oder Kiupel, und dem WHO-Stage konnten aufgrund zu weniger Fallzahlen und im Hinblick auf den Tumorgrad nach Patnaik zu vielen Untergruppen keine Korrelationen nachgewiesen werden. Für die anderen Punkte, wie zum Beispiel Art des MCT, Lokalisation, Lymphknotenstatus, c-KIT-Veränderung und Patienten mit Versagen der ersten Chemotherapie, war die Patientenzahl zu gering für eine statistisch belastbare Aussage. Ein möglicher Zusammenhang dieser Faktoren mit dem DFI und damit einen Nutzen als prognostischer Faktor, konnte hier leider nicht geziegt werden. Zum einen liegt dies an den geringen Fallzahlen, mag aber auch ein kleiner Hinweis darauf sein, dass in Sachen prognostischer Faktoren und deren Aussagekraft der letzte Stand der Dinge aktuell noch nicht erreicht ist.

Während der Betrachtung der Überlebenszeiten fiel auf, dass einige Hunde (n = 44) bereits innerhalb des ersten Jahres nach Diagnose verstorben sind. Von diesen 44 Tieren sind 42 Hunde (95,5 %) an den direkten Folgen des MCT oder durch Mastzelltumormetastasen gestorben. Im zweiten Jahr nach der Diagnose haben noch 31 von 60 Hunden gelebt und 13 Hunde sind in diesem Jahr an den Folgen der Erkrankung gestorben (21,67 %). Diese Tumorerkrankung kann diesen Daten zur Folge zu einem schnellen Versterben der Patienten führen. Die mediane Überlebenszeit lag bei Patienten, die innerhalb eines Jahres gestorben sind, bei 94,5 Tagen. In der Literatur ist für undifferenzierte MCT ein Versterben innerhalb eines Jahres in zwei Studien belegt (BOSTOCK, 1973) (HUME et al., 2011). Ab dem zweiten Jahr waren es median schon 1099 Tage. Die klinischen Tumordaten dieser Patienten belegten ebenso eine deutlich höhere Malignität, so hatten diese Tumoren eine mediane Größe von 2,9 cm (ab dem zweiten Jahr 2,0 cm) und bei 38,6 % der Tiere waren die regionären LK bei der Eingangsuntersuchung vergrößert. Ebenso wurde ein Auftreten von Juckreiz und Entzündung im Bereich des Tumors bei 40,9 % der Patienten, die innerhalb eines Jahres starben, vermerkt. Die Bewertung der Tumorgröße muss in unserer Studie vorsichtig betrachtet werden. Durch die retrospektive Datenauswertung gab es kein einheitliches Schema für die Ausmessung der Neoplasie und in vielen Fällen wurden nicht Länge, Breite und Höhe des Tumors angegeben. Die Ausmessung des Tumors wurde auch nicht immer von derselben Person durchgeführt. Daher wurde immer nur die jeweils größte Längenangabe, wie in der Studie von Nguyen und Kollegen (NGUYEN et al., 2015), herangezogen. In Studien wird die Tumorgröße als

negativ für die DFI, die Rezidivrate und die Überlebenszeit erachtet (BOSTOCK et al., 1989) (GERRITSEN et al., 1998) (LADUE et al., 1998) (THAMM et al., 1999) (HAHN et al., 2004) (MULLINS et al., 2006). In der Studie von Hahn und Kollegen haben Hunde mit einem MCT  $\leq 3$  cm im Durchmesser signifikant länger gelebt als Tiere mit einem größeren Tumor (HAHN et al., 2004). Ein negativer Einfluss der Tumorgöße auf die Überlebenszeit konnte somit hier ebenfalls bestätigt werden. Eine Vergrößerung des regionären LK und das Auftreten von Juckreiz und Entzündung, als paraneoplastisches Syndrom, trat auch hier bei Hunden, die innerhalb eines Jahres verstarben häufiger auf und unterstützen die Erfahrungen der Literatur auf eine höhere Malignität des Tumors (LONDON & SEGUIN, 2003) (MULLINS et al., 2006) (MURPHY et al., 2006).

Es gibt in unserer Studie einige Limitationen, die sich zum einen aus dem retrospektiven Charakter und andererseits aus den niedrigen Fallzahlen in den einzelnen Gruppen ergeben. So haben verschiedene Pathologen von verschiedenen Laboren die MCT diagnostiziert und die Ränder beurteilt. Histologisch wurden die Tumoren dieser Studie nicht neu bewertet. Behandlung und Transport der Proben ist genauso unklar wie die Fixation, Färbung, Schnittauswahl, und es ist wahrscheinlich, dass es auch Unterschiede in der Anzahl der untersuchten Schnitte für die Randbeurteilung gegeben hat. Bei lokalen Rezidiven oder Metastasen wurde nicht in allen Fällen eine histologische Untersuchung eingeleitet, sondern der Verdacht durch eine FNA oder durch sonographische oder radiologische Veränderungen ausgesprochen. Es gab auch keine Untersuchung auf Metastasen post mortem, sodass die Rezidiv- oder Metastasierungsrate sicher deutlich höher sein könnte. Die Nachverfolgung der Patienten lief v. a. durch Telefonate mit den Besitzern, weshalb bei der Anzahl der Rezidive und der letztlichen Todesursache nicht auszuschließen ist, dass es zu fehlerhaften Angaben gekommen ist, die wiederum Einfluss auf die Daten haben. Über die Jahre waren viele verschiedene Personen an der Untersuchung und Behandlung der Patienten beteiligt, was für die klinische Untersuchung und Ausmessung des Tumors nicht ideal ist; und auch für die Beurteilung des Behandlungserfolges ergeben sich hierbei subjektive Nachteile. Die Einteilung und die Einschätzung möglicher OP-Ränder (clean, close, dirty) wurden aus den Histologieberichten übernommen, jedoch gibt es bis heute keine offiziellen Definitionen für diese Begriffe, denn sie beruhen auf der jeweiligen Meinung des

Pathologen. Bei der Beurteilung der sonographischen und radiologischen Untersuchungen waren ebenfalls viele verschiedene Personen beteiligt und Operationen wurden häufig von den jeweils überweisenden Tierärzten durchgeführt, was ebenfalls eine Beurteilung erschwert.

Mit der Einführung neuer histologischer Einteilungssysteme und neuer prognostischer Faktoren waren bei den verschiedenen Patienten oftmals andere und zusätzliche Informationen in der Kartei vorhanden.

Durch den relativ langen Zeitraum der Studie waren nicht alle Patientenbesitzer telefonisch erreichbar bzw. stützte sich deren Beurteilung des Behandlungserfolges, der Rezidivhäufigkeit und des genauen Todestages auf individuelle Einschätzungen.

Eine prospektive Studie mit einem standardisierten Staging, mit umfassenden Informationen über den histologischen Tumorgrad und zu den prognostischen Faktoren, mit detaillierten Angaben über die OP-Ränder sowie eine engmaschige Nachverfolgung mit objektiven Beurteilungskriterien je nach Behandlungsmethode wären für die Zukunft ideal, um Vor- bzw. Nachteile der bisherigen Diagnose- und Therapiemöglichkeiten caniner MCT herauszufiltern.

## **VI. ZUSAMMENFASSUNG**

MCT stellen beim Hund ein relativ häufiges Problem dar. In dieser Studie traten sie bei Labradoren, Golden Retrievern und Shar Peis signifikant häufiger auf als bei anderen Rassen. Hinsichtlich der Lokalisation der Tumoren gab es in dieser Studie eine Häufung im Bereich der Extremitäten und multiple MCT waren häufiger als in bisherigen Arbeiten zu verzeichnen. Eine schnelle erste Diagnose kann in den meisten Fällen durch eine FNA gestellt werden. Die zusätzliche histologische Untersuchung des Tumors bleibt bis heute jedoch unerlässlich. Weitere Studien zum Thema Sensitivität und Spezifität der prognostischen Faktoren werden in Zukunft die exakte Prognose für jeden Patienten weiter verbessern und mit standardisierten Beurteilungskriterien wird das bisherige Wissen in der Literatur besser vergleichbar.

Die Prognose bei multiplen Tumoren fiel in dieser Studienpopulation etwas schlechter aus als in der Literatur. Eine ausführliche Untersuchung des Patienten mit MCT scheint daher mehr denn ohnehin empfohlen.

Für die meisten Hunde mit kutanen MCT ist eine komplette Entfernung zur Herstellung einer kurativen Situation ausreichend. Sollte doch eine adjuvante Therapie nötig sein, so ist das Ansprechen auf eine lokale Strahlentherapie oder eine systemische Chemotherapie als sehr gut zu bewerten, und Nebenwirkungen, die einen Klinikaufenthalt nötig machen sollten, treten nur in den seltensten Fällen auf. Im Vergleich zur Gruppe ohne jegliche Behandlungsform zeigte jeder der Patienten mit einer Behandlung des MCT eine bessere Überlebenszeit. Dennoch war in dieser Studie der Anteil der Patienten, die innerhalb eines Jahres nach Diagnose verstorben sind, sehr hoch.

Zusammenfassend kann man sagen, dass MCT sehr maligne sein können und schnell zum Tode des Hundes führen können. Die aktuellen Behandlungsoptionen werden allerdings sehr gut vertragen und können die Überlebenszeiten des Patienten deutlich verbessern. Daher ist es zukünftig essentiell, zuverlässige prognostische Faktoren zu identifizieren, mit denen es möglich ist, diejenigen Patienten herauszufiltern, die am meisten von adjuvanten Therapieformen profitieren würden, damit längere krankheitsfreie Zeiten und Überlebenszeiten möglich werden.



## VII. SUMMARY

Mast cell tumors are a prevalent problem for dogs of all races. Labrador, Golden Retrievers and Shar Peis were significantly overrepresented in this study compared to other races. Within the population of patients observed here, the tumors showed localized accumulation more commonly in the limb region of the body. In addition, this ascertained canine population, recorded more occurrences of multiple mast cell tumors than had previously been recorded. In most cases, a swift initial diagnosis can be made by a fine needle aspiration. However, a histopathologic verification of the tumor remains an imperative, and as of to date, the most reliable prognostic factor. Further studies pertaining to sensitivity and specificity of prognostic factors will improve the accuracy of the prognosis for each future patient, and with the standardization of evaluation criteria, the data and knowledge contained in existing literature will become more exhaustive, and thus, comparable.

The prognosis for multiple MCT was slightly more negative than previously reported. Consequently, for those patients an even more comprehensive clinical assessment is indicated and recommended.

For most dogs with cutaneous mast cell tumors a complete surgical resection is sufficient for cure. If any adjunct therapy is required, the response to local radiation therapy or systemic chemotherapy tends to be very positive. Only in very rare cases do adverse events for either treatment option require hospitalization. Each patient receiving treatment, independent of the kind of treatment, showed improved survival times in comparison to the group with no treatment, even with incomplete resected tumors. Nevertheless, this study's population had a high percentage of casualties within the first year after diagnosis.

In conclusion, mast cell tumors can be highly malignant and can lead to death in a short period of time. The existing treatment options are well tolerated and can markedly improve survival times. Therefore, it is essential to focus future studies on identifying valuable and comparable prognostic factors in order to pinpoint the kind of patient who would benefit most from any kind of adjunctive therapy, which leads to longer disease free intervals and survival times.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Abadie JJ, Amardeilh MA, Delverdier ME. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in mast cell tumors from dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 215: 1629-34.

al-Sarraf R, Mauldin GN, Patnaik AK, Meleo KA. A prospective study of radiation therapy for the treatment of grade 2 mast cell tumors in 32 dogs. *J Vet Intern Med* 1996; 10: 376-8.

Allan GS, Gillette EL. Response of canine mast cell tumors to radiation. *J Natl Cancer Inst* 1979; 63: 691-4.

Asboe-Hansen G. The mast cell. Cortisone action on connective tissue. *Proc Soc Exp Biol Med* 1952; 80: 677-9.

Aubele M, Biesterfeld S, Derenzini M, Hufnagl P, Martin H, Ofner D, Ploton D, Ruschoff J. Guidelines of AgNOR quantitation. Committee on AgNOR Quantitation within the European Society of Pathology. *Zentralbl Pathol* 1994; 140: 107-8.

Baker-Gabb M, Hunt GB, France MP. Soft tissue sarcomas and mast cell tumours in dogs; clinical behaviour and response to surgery. *Aust Vet J* 2003; 81: 732-8.

Bernabe LF, Portela R, Nguyen S, Kisseberth WC, Pennell M, Yancey MF, London CA. Evaluation of the adverse event profile and pharmacodynamics of toceranib phosphate administered to dogs with solid tumors at doses below the maximum tolerated dose. *BMC Vet Res* 2013; 9: 190.

Biesterfeld S, Reitmaier M. Re-evaluation of prognostic mitotic figure counting in breast cancer: results of a prospective clinical follow-up study. *Anticancer Res* 2001; 21: 589-94.

Blackwood L, Murphy S, Buracco P, De Vos JP, De Fornel-Thibaud P, Hirschberger J, Kessler M, Pastor J, Ponce F, Savary-Bataille K, Argyle DJ. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet Comp Oncol* 2012; 10: e1-e29.

Bloom F. Effect of cortisone on mast cell tumors (mastocytoma) of the dog. *Proc Soc Exp Biol Med* 1952; 79: 651-4.

Bolton WE, Mikulka WR, Healy CG, Schmittling RJ, Kenyon NS. Expression of proliferation associated antigens in the cell cycle of synchronized mammalian cells. *Cytometry* 1992; 13: 117-26.

Book AP, Fidel J, Wills T, Bryan J, Sellon R, Mattoon J. Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Vet Radiol Ultrasound* 2011; 52: 548-54.

Bookbinder PF, Butt MT, Harvey HJ. Determination of the number of mast cells in lymph node, bone marrow, and buffy coat cytologic specimens from dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 200: 1648-50.

Bostock DE. The prognosis following surgical removal of mastocytomas in dogs. *J Small Anim Pract* 1973; 14: 27-41.

Bostock DE. Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. *Br Vet J* 1986; 142: 1-19.

Bostock DE, Crocker J, Harris K, Smith P. Nucleolar organiser regions as indicators of post-surgical prognosis in canine spontaneous mast cell tumours. *Br J Cancer* 1989; 59: 915-8.

Brocks BA, Neyens IJ, Teske E, Kirpensteijn J. Hypotonic water as adjuvant therapy for incompletely resected canine mast cell tumors: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Vet Surg* 2008; 37: 472-8.

Brodey RS, Mc GJ, Martin JE. Preliminary observations on the use of cortisone in canine mast cell sarcoma. *J Am Vet Med Assoc* 1953; 123: 391-4.

Brodey RS. Canine and feline neoplasia. *Adv Vet Sci Comp Med* 1970; 14: 309-54.

Burris HA, 3rd, Fields S. Summary of data from in vitro and phase I vinorelbine (Navelbine) studies. *Semin Oncol* 1994; 21: 14-9; discussion 9-20.

Burton JH, Venable RO, Vail DM, Williams LE, Clifford CA, Axiak-Bechtel SM, Avery AC, Thamm DH. Pulse-Administered Toceranib Phosphate Plus Lomustine for Treatment of Unresectable Mast Cell Tumors in Dogs. *J Vet Intern Med* 2015; 29: 1098-104.

Cahalane AK, Payne S, Barber LG, Duda LE, Henry CJ, Mauldin GE, Frimberger AE, Cotter SM, Moore AS. Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without adjunctive treatment: 68 cases (1994-2002). *J Am Vet Med Assoc* 2004; 225: 401-8.

Camps-Palau MA, Leibman NF, Elmslie R, Lana SE, Plaza S, McKnight JA, Risbon R, Bergman PJ. Treatment of canine mast cell tumours with vinblastine, cyclophosphamide and prednisone: 35 cases (1997-2004). *Vet Comp Oncol* 2007; 5: 156-67.

Camus MS, Priest HL, Koehler JW, Driskell EA, Rakich PM, Ilha MR, Krimer PM. Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Vet Pathol* 2016; 53: 1117-23.

Carlsten KS, London CA, Haney S, Burnett R, Avery AC, Thamm DH. Multicenter prospective trial of hypofractionated radiation treatment, toceranib, and prednisone for measurable canine mast cell tumors. *J Vet Intern Med* 2012; 26: 135-41.

Castells M. Mast cell mediators in allergic inflammation and mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2006; 26: 465-85.

Cayatte SM, McManus PM, Miller WH, Jr., Scott DW. Identification of mast cells in buffy coat preparations from dogs with inflammatory skin diseases. *J Am Vet Med Assoc* 1995; 206: 325-6.

Cemazar M, Ambrozic Avgustin J, Pavlin D, Sersa G, Poli A, Krhac Levacic A, Tesic N, Lamprecht Tratar U, Rak M, Tozon N. Efficacy and safety of electrochemotherapy combined with peritumoral IL-12 gene electrotransfer of canine mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2016: 641-54.

Chaffin K, Thrall DE. Results of radiation therapy in 19 dogs with cutaneous mast cell tumor and regional lymph node metastasis. *Vet Radiol Ultrasound* 2002; 43: 392-5.

Chon E, McCartan L, Kubicek LN, Vail DM. Safety evaluation of combination toceranib phosphate (Palladia(R)) and piroxicam in tumour-bearing dogs (excluding mast cell tumours): a phase I dose-finding study. *Vet Comp Oncol* 2012; 10: 184-93.

Costa Casagrande TA, de Oliveira Barros LM, Fukumasu H, Cogliati B, Chaible LM, Dagli ML, Matera JM. The value of molecular expression of KIT and KIT ligand analysed using real-time polymerase chain reaction and immunohistochemistry as a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2015; 13: 1-10.

da Silva EZ, Jamur MC, Oliver C. Mast cell function: a new vision of an old cell. *J Histochem Cytochem* 2014; 62: 698-738.

Davies DR, Wyatt KM, Jardine JE, Robertson ID, Irwin PJ. Vinblastine and prednisolone as adjunctive therapy for canine cutaneous mast cell tumors. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 124-30.

de Vos J, Ramos Vega S, Noorman E, de Vos P. Primary frontal sinus squamous cell carcinoma in three dogs treated with piroxicam combined with carboplatin or toceranib. *Vet Comp Oncol* 2012; 10: 206-13.

DeNicola DB. Round cells: Mast cell tumors. In: Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and hematology of the Dog and Cat, 4 edn. Cowell RL, Valenciano AC, eds. 3251 Riverport Lane St. Louis, MO 63043: Elsevier 2014: 70 - 9.

Derenzini M. The AgNORs. *Micron* 2000; 31: 117-20.

Dobson J, Cohen S, Gould S. Treatment of canine mast cell tumours with prednisolone and radiotherapy. *Vet Comp Oncol* 2004; 2: 132-41.

Downing S, Chien MB, Kass PH, Moore PE, London CA. Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs. *Am J Vet Res* 2002; 63: 1718-23.

Dubreuil P, Letard S, Ciufolini M, Gros L, Humbert M, Casteran N, Borge L, Hajem B, Lermet A, Sippl W, Voisset E, Arock M, Auclair C, Leventhal PS, Mansfield CD, Moussy A, Hermine O. Masitinib (AB1010), a potent and selective tyrosine kinase inhibitor targeting KIT. *PLoS One* 2009; 4: e7258.

Dunn JK, Gerber K. Diagnostic cytology. In: BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology, 2 edn. Villiers E, Blackwood L, eds. Woodrow House, 1 Telford Way, Waterwells Business Park, Quedgeley, Gloucestershire, GL2 2AB: British Small Animal Veterinary Association 2007: 322 - 3.

Elders RC, Baines SJ, Catchpole B. Susceptibility of the C2 canine mastocytoma

cell line to the effects of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 130: 11-6.

Elston LB, Sueiro FA, Cavalcanti JN, Metze K. The importance of the mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: a validation study. *Vet Pathol* 2009; 46: 362-4, author reply 4-5.

Endicott MM, Charney SC, McKnight JA, Loar AS, Barger AM, Bergman PJ. Clinicopathological findings and results of bone marrow aspiration in dogs with cutaneous mast cell tumours: 157 cases (1999-2002). *Vet Comp Oncol* 2007; 5: 31-7.

Fife M, Blocker T, Fife T, Dubielzig RR, Dunn K. Canine conjunctival mast cell tumors: a retrospective study. *Vet Ophthalmol* 2011; 14: 153-60.

Finora K, Leibman NF, Fettman MJ, Powers BE, Hackett TA, Withrow SJ. Cytological comparison of fine-needle aspirates of liver and spleen of normal dogs and of dogs with cutaneous mast cell tumours and an ultrasonographically normal appearing liver and spleen. *Vet Comp Oncol* 2006; 4: 178-83.

Fonseca-Alves CE, Bento DD, Torres-Neto R, Werner J, Kitchell B, Laufer-Amorim R. Ki67/KIT double immunohistochemical staining in cutaneous mast cell tumors from Boxer dogs. *Res Vet Sci* 2015; 102: 122-6.

Fox LE, Rosenthal RC, Twedt DC, Dubielzig RR, MacEwen EG, Grauer GF. Plasma histamine and gastrin concentrations in 17 dogs with mast cell tumors. *J Vet Intern Med* 1990; 4: 242-6.

Frimberger AE, Moore AS, LaRue SM, Gliatto JM, Bengtson AE. Radiotherapy of incompletely resected, moderately differentiated mast cell tumors in the dog: 37 cases (1989-1993). *J Am Anim Hosp Assoc* 1997; 33: 320-4.

Frimberger AE, Moore AS, Cincotta L, Cotter SM, Foley JW. Photodynamic therapy of naturally occurring tumors in animals using a novel benzophenothiazine photosensitizer. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 2207-18.

Fulcher RP, Ludwig LL, Bergman PJ, Newman SJ, Simpson AM, Patnaik AK. Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 228: 210-5.

Gentilini F, Mantovani V, Turba ME. The use of COLD-PCR, DHPLC and GeneScanning for the highly sensitive detection of c-KIT somatic mutations in canine mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2015; 13: 218-28.

Gerritsen RJ, Teske E, Kraus JS, Rutteman GR. Multi-agent chemotherapy for mast cell tumours in the dog. *Vet Q* 1998; 20: 28-31.

Ghably J, Saleh H, Vyas H, Peiris E, Misra N, Krishnaswamy G. Paul Ehrlich's mastzellen: a historical perspective of relevant developments in mast cell biology. *Methods Mol Biol* 2015; 1220: 3-10.

Gherzi G, Dong H, Goldstein LA, Yeh Y, Hakkinen L, Larjava HS, Chen WT. Regulation of fibroblast migration on collagenous matrix by a cell surface peptidase complex. *J Biol Chem* 2002; 277: 29231-41.

Giantin M, Vascellari M, Morello EM, Capello K, Vercelli A, Granato A, Lopparelli RM, Nassuato C, Carminato A, Martano M, Mutinelli F, Dacasto M. c-KIT messenger RNA and protein expression and mutations in canine cutaneous mast cell tumors: correlations with post-surgical prognosis. *J Vet Diagn Invest* 2012; 24: 116-26.

Gieger TL, Theon AP, Werner JA, McEntee MC, Rassnick KM, DeCock HE. Biologic behavior and prognostic factors for mast cell tumors of the canine muzzle: 24 cases (1990-2001). *J Vet Intern Med* 2003; 17: 687-92.

Gil da Costa RM, Matos E, Rema A, Lopes C, Pires MA, Gartner F. CD117 immunoexpression in canine mast cell tumours: correlations with pathological variables and proliferation markers. *BMC Vet Res* 2007; 3: 19.

Giuliano A, Dos Santos Horta R, Constantino-Casas F, Hoather T, Dobson J. Expression of Fibroblast Activating Protein and Correlation with Histological Grade, Mitotic Index and Ki67 Expression in Canine Mast Cell Tumours. *J Comp Pathol* 2016: 14-20.

Govier SM. Principles of treatment for mast cell tumors. *Clin Tech Small Anim Pract* 2003; 18: 103-6.

Grant IA, Rodriguez CO, Kent MS, Sfilgoi G, Gordon I, Davis G, Lord L, London CA. A phase II clinical trial of vinorelbine in dogs with cutaneous mast cell tumors. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 388-93.

Grier RL, Di Guardo G, Myers R, Merkley DF. Mast cell tumour destruction in dogs by hypotonic solution. *J Small Anim Pract* 1995; 36: 385-8.

Grier RL, Di Guardo G. Deionised water and mast cell tumours. *J Small Anim Pract* 2000; 41: 368-71.

Hahn KA, Lantz GC, Salisbury SK, Blevins WE, Widmer WR. Comparison of survey radiography with ultrasonography and x-ray computed tomography for clinical staging of subcutaneous neoplasms in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 1795-8.

Hahn KA, King GK, Carreras JK. Efficacy of radiation therapy for incompletely resected grade-III mast cell tumors in dogs: 31 cases (1987-1998). *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224: 79-82.

Hahn KA, Ogilvie G, Rusk T, Devauchelle P, Leblanc A, Legendre A, Powers B, Leventhal PS, Kinet JP, Palmerini F, Dubreuil P, Moussy A, Hermine O. Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 1301-9.

Hahn KA, Legendre AM, Shaw NG, Phillips B, Ogilvie GK, Prescott DM, Atwater SW, Carreras JK, Lana SE, Ladue T, Rusk A, Kinet JP, Dubreuil P, Moussy A, Hermine O. Evaluation of 12- and 24-month survival rates after treatment with masitinib in dogs with nonresectable mast cell tumors. *Am J Vet Res* 2010; 71: 1354-61.

Halsey CH, Gustafson DL, Rose BJ, Wolf-Ringwall A, Burnett RC, Duval DL, Avery AC, Thamm DH. Development of an in vitro model of acquired resistance to toceranib phosphate (Palladia) in canine mast cell tumor. *BMC Vet Res* 2014; 10: 105.

Hatanaka K, Kitamura Y, Nishimune Y. Local development of mast cells from bone marrow-derived precursors in the skin of mice. *Blood* 1979; 53: 142-7.

Hayes A, Adams V, Smith K, Maglennon G, Murphy S. Vinblastine and prednisolone chemotherapy for surgically excised grade III canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2007; 5: 168-76.

Henry CJ, Downing S, Rosenthal RC, Klein MK, Meleo K, Villamil JA, Fineman LS, McCaw DL, Higginbotham ML, McMichael J. Evaluation of a novel



immunomodulator composed of human chorionic gonadotropin and bacillus Calmette-Guerin for treatment of canine mast cell tumors in clinically affected dogs. *Am J Vet Res* 2007; 68: 1246-51.

Hergt F, von Bomhard W, Kent MS, Hirschberger J. Use of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors on cytology specimens. *Vet Clin Pathol* 2016; 45: 477-83.

Hershey B, Halsey C (2013) Consensus on Grading Canine Cutaneous MCTs. Ed Subgroup VO-PWGMCT. *Vetcancersociety*, P.O. Box 30855 Columbia, MO 65205. 1 - 4

Hillman LA, Garrett LD, de Lorimier LP, Charney SC, Borst LB, Fan TM. Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs: 44 cases (1996-2006). *J Am Vet Med Assoc* 2010; 237: 936-42.

Hottendorf GH, Nielsen SW. Canine mastocytoma--a review of clinical aspects. *J Am Vet Med Assoc* 1969; 154: 917-24.

Howard E, Sawa T, Nielsen S, Kenyon A. Mastocytoma and gastroduodenal ulceration: Gastric and duodenal ulcers in dogs with mastocytoma. *Pathologia Veterinaria Online* 1969; 6: 146-58.

Hume CT, Kiupel M, Rigatti L, Shofer FS, Skorupski KA, Sorenmo KU. Outcomes of dogs with grade 3 mast cell tumors: 43 cases (1997-2007). *J Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47: 37-44.

Hwang CC, Umeki S, Kubo M, Hayashi T, Shimoda H, Mochizuki M, Maeda K, Baba K, Hiraoka H, Coffey M, Okuda M, Mizuno T. Oncolytic reovirus in canine mast cell tumor. *PLoS One* 2013; 8: e73555.

Isotani M, Ishida N, Tominaga M, Tamura K, Yagihara H, Ochi S, Kato R, Kobayashi T, Fujita M, Fujino Y, Setoguchi A, Ono K, Washizu T, Bonkobara M. Effect of tyrosine kinase inhibition by imatinib mesylate on mast cell tumors in dogs. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 985-8.

Iwata N, Ochiai K, Kadosawa T, Takiguchi M, Umemura T. Canine extracutaneous mast-cell tumours consisting of connective tissue mast cells. *J Comp Pathol* 2000; 123: 306-10.

Jaffe MH, Hosgood G, Kerwin SC, Hedlund CS, Taylor HW. Deionised water as

an adjunct to surgery for the treatment of canine cutaneous mast cell tumours. *J Small Anim Pract* 2000; 41: 7-11.

Johnson RE, Sigman JD, Funk GF, Robinson RA, Hoffman HT. Quantification of surgical margin shrinkage in the oral cavity. *Head Neck* 1997; 19: 281-6.

Kerns MJ, Darst MA, Olsen TG, Fenster M, Hall P, Grevey S. Shrinkage of cutaneous specimens: formalin or other factors involved? *J Cutan Pathol* 2008; 35: 1093-6.

Kisseberth WC, Murahari S, London CA, Kulp SK, Chen CS. Evaluation of the effects of histone deacetylase inhibitors on cells from canine cancer cell lines. *Am J Vet Res* 2008; 69: 938-45.

Kitamura Y, Fujita J. Regulation of mast cell differentiation. *Bioessays* 1989; 10: 193-6.

Kiupel M, Webster JD, Kaneene JB, Miller R, Yuzbasiyan-Gurkan V. The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol* 2004; 41: 371-7.

Kiupel M, Webster JD, Miller RA, Kaneene JB. Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2005; 52: 280-6.

Kiupel M, Webster JD, Bailey KL, Best S, DeLay J, Detrisac CJ, Fitzgerald SD, Gamble D, Ginn PE, Goldschmidt MH, Hendrick MJ, Howerth EW, Janovitz EB, Langohr I, Lenz SD, Lipscomb TP, Miller MA, Misdorp W, Moroff S, Mullaney TP, Neyens I, O'Toole D, Ramos-Vara J, Scase TJ, Schulman FY, Sledge D, Smedley RC, Smith K, P WS, Southorn E, Stedman NL, Steficek BA, Stromberg PC, Valli VE, Weisbrode SE, Yager J, Heller J, Miller R. Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Vet Pathol* 2011; 48: 147-55.

Kobayashi M, Sugisaki O, Ishii N, Yamada O, Ito K, Kuroki S, Sasaki Y, Ono K, Washizu T, Bonkobara M. Canine intestinal mast cell tumor with c-kit exon 8 mutation responsive to imatinib therapy. *Vet J* 2012; 193: 264-7.

Kodre V, Cemazar M, Pecar J, Sersa G, Cor A, Tozon N. Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In Vivo* 2009; 23:

55-62.

Krahwinkel DJ, Jr. Cryosurgical treatment of skin diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1980; 10: 787-801.

Kravis LD, Vail DM, Kisseberth WC, Ogilvie GK, Volk LM. Frequency of argyrophilic nucleolar organizer regions in fine-needle aspirates and biopsy specimens from mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209: 1418-20.

Krick EL, Billings AP, Shofer FS, Watanabe S, Sorenmo KU. Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. *Vet Comp Oncol* 2009; 7: 130-8.

Krikorian A, Rahmani R, Bromet M, Bore P, Cano JP. Pharmacokinetics and metabolism of Navelbine. *Semin Oncol* 1989; 16: 21-5.

Kry KL, Boston SE. Additional local therapy with primary re-excision or radiation therapy improves survival and local control after incomplete or close surgical excision of mast cell tumors in dogs. *Vet Surg* 2014; 43: 182-9.

LaDue T, Price GS, Dodge R, Page RL, Thrall DE. Radiation therapy for incompletely resected canine mast cell tumors. *Vet Radiol Ultrasound* 1998; 39: 57-62.

Ladue T, Klein MK. Toxicity criteria of the veterinary radiation therapy oncology group. *Vet Radiol Ultrasound* 2001; 42: 475-6.

Laprie C, Abadie J, Amardeilh MF, Raymond I, Delverdier M. Detection of the Ki-67 proliferation associated nuclear epitope in normal canine tissues using the monoclonal antibody MIB-1. *Anat Histol Embryol* 1998; 27: 251-6.

Legorreta RA, Denman DL, Kelley MC, Lewis GC, Jr. Use of hyperthermia and radiotherapy in treatment of a large mast cell sarcoma in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1988; 193: 1545-8.

Leidinger EF, Freeman K, Kirtz G, Hooijberg EH, Sick K. Breed related odds ratio and anatomic distribution of canine mast cell tumours in Austria. Retrospective study of cases in the years 2000-2010. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 2014; 42: 367-73.

Lennartsson J, Ronnstrand L. Stem cell factor receptor/c-Kit: from basic science to clinical implications. *Physiol Rev* 2012; 92: 1619-49.

Letard S, Yang Y, Hanssens K, Palmerini F, Leventhal PS, Guery S, Moussy A, Kinet JP, Hermine O, Dubreuil P. Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. *Mol Cancer Res* 2008; 6: 1137-45.

Lin TY, Bear M, Du Z, Foley KP, Ying W, Barsoum J, London C. The novel HSP90 inhibitor STA-9090 exhibits activity against Kit-dependent and -independent malignant mast cell tumors. *Exp Hematol* 2008; 36: 1266-77.

Lin TY, Fenger J, Murahari S, Bear MD, Kulp SK, Wang D, Chen CS, Kisseberth WC, London CA. AR-42, a novel HDAC inhibitor, exhibits biologic activity against malignant mast cell lines via down-regulation of constitutively activated Kit. *Blood* 2010; 115: 4217-25.

London C, Mathie T, Stingle N, Clifford C, Haney S, Klein MK, Beaver L, Vickery K, Vail DM, Hershey B, Ettinger S, Vaughan A, Alvarez F, Hillman L, Kiselow M, Thamm D, Higginbotham ML, Gauthier M, Krick E, Phillips B, Ladue T, Jones P, Bryan J, Gill V, Novasad A, Fulton L, Carreras J, McNeill C, Henry C, Gillings S. Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia) in solid tumours. *Vet Comp Oncol* 2012; 10: 194-205.

London CA, Galli SJ, Yuuki T, Hu ZQ, Helfand SC, Geissler EN. Spontaneous canine mast cell tumors express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Exp Hematol* 1999; 27: 689-97.

London CA, Hannah AL, Zadovskaya R, Chien MB, Kollias-Baker C, Rosenberg M, Downing S, Post G, Boucher J, Shenoy N, Mendel DB, McMahon G, Cherrington JM. Phase I dose-escalating study of SU11654, a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2755-68.

London CA, Seguin B. Mast cell tumors in the dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2003; 33: 473-89.

London CA, Malpas PB, Wood-Follis SL, Boucher JF, Rusk AW, Rosenberg MP, Henry CJ, Mitchener KL, Klein MK, Hintermeister JG, Bergman PJ, Couto GC, Mauldin GN, Michels GM. Multi-center, placebo-controlled, double-blind,

randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3856-65.

London CA, Bear MD, McCleese J, Foley KP, Paalangara R, Inoue T, Ying W, Barsoum J. Phase I evaluation of STA-1474, a prodrug of the novel HSP90 inhibitor ganetespib, in dogs with spontaneous cancer. *PLoS One* 2011; 6: e27018.

London CA. Kinase dysfunction and kinase inhibitors. *Vet Dermatol* 2013; 24: 181-7.e39-40.

London CA, Thamm DH. Mast Cell Tumors. In: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5 edn. Withrow SJ, Vail DM, Page RL, eds. 3251 Riverport Lane St. Louis, Missouri 63043: Elsevier Saunders 2013: 335 - 46.

London CA, Gardner HL, Mathie T, Stingle N, Portela R, Pennell ML, Clifford CA, Rosenberg MP, Vail DM, Williams LE, Cronin KL, Wilson-Robles H, Borgatti A, Henry CJ, Bailey DB, Locke J, Northrup NC, Crawford-Jakubiak M, Gill VL, Klein MK, Ruslander DM, Thamm DH, Phillips B, Post G. Impact of Toceranib/Piroxicam/Cyclophosphamide Maintenance Therapy on Outcome of Dogs with Appendicular Osteosarcoma following Amputation and Carboplatin Chemotherapy: A Multi-Institutional Study. *PLoS One* 2015; 10: e0124889.

Lv Q, Zhang J, Yi Y, Huang Y, Wang Y, Wang Y, Zhang W. Proliferating Cell Nuclear Antigen Has an Association with Prognosis and Risks Factors of Cancer Patients: a Systematic Review. *Mol Neurobiol* 2015;

Macy DW. Canine mast cell tumors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1985; 15: 783-803.

Macy DW. Canine and feline mast cell tumors: biologic behavior, diagnosis, and therapy. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1986; 1: 72-83.

Madewell BR. Cellular proliferation in tumors: a review of methods, interpretation, and clinical applications. *J Vet Intern Med* 2001; 15: 334-40.

Maglennon GA, Murphy S, Adams V, Miller J, Smith K, Blunden A, Scase TJ. Association of Ki67 index with prognosis for intermediate-grade canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2008; 6: 268-74.

Marconato L, Bettini G, Giacoboni C, Romanelli G, Cesari A, Zatelli A, Zini E. Clinicopathological features and outcome for dogs with mast cell tumors and bone marrow involvement. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 1001-7.

Marconato L, Zorzan E, Giantin M, Di Palma S, Cancedda S, Dacasto M. Concordance of c-kit mutational status in matched primary and metastatic cutaneous canine mast cell tumors at baseline. *J Vet Intern Med* 2014; 28: 547-53.

Marech I, Patruno R, Zizzo N, Gadaleta C, Introna M, Zito AF, Gadaleta CD, Ranieri G. Masitinib (AB1010), from canine tumor model to human clinical development: where we are? *Crit Rev Oncol Hematol* 2014; 91: 98-111.

Matsuda A, Tanaka A, Amagai Y, Ohmori K, Nishikawa S, Xia Y, Karasawa K, Okamoto N, Oida K, Jang H, Matsuda H. Glucocorticoid sensitivity depends on expression levels of glucocorticoid receptors in canine neoplastic mast cells. *Vet Immunol Immunopathol* 2011; 144: 321-8.

Mayer MN. Radiation therapy for canine mast cell tumors. *Can Vet J* 2006; 47: 263-5.

McCaw DL, Miller MA, Ogilvie GK, Withrow SJ, Brewer WG, Jr., Klein MK, Bell FW, Anderson SK. Response of canine mast cell tumors to treatment with oral prednisone. *J Vet Intern Med* 1994; 8: 406-8.

McCaw DL, Miller MA, Bergman PJ, Withrow SJ, Moore AS, Knapp DW, Fowler D, Johnson JC. Vincristine therapy for mast cell tumors in dogs. *J Vet Intern Med* 1997; 11: 375-8.

McManus PM. Frequency and severity of mastocytosis in dogs with and without mast cell tumors: 120 cases (1995-1997). *J Am Vet Med Assoc* 1999; 215: 355-7.

McNiel EA, Prink AL, O'Brien TD. Evaluation of risk and clinical outcome of mast cell tumours in pug dogs. *Vet Comp Oncol* 2006; 4: 2-8.

Mederle O, Mederle N, Bocan EV, Ceausu R, Raica M. VEGF expression in dog mastocytoma. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2010; 114: 185-8.

Michels GM, Knapp DW, DeNicola DB, Glickman N, Bonney P. Prognosis following surgical excision of canine cutaneous mast cell tumors with histopathologically tumor-free versus nontumor-free margins: a retrospective study of 31 cases. *J Am Anim Hosp Assoc* 2002; 38: 458-66.

Miller DM. The occurrence of mast cell tumors in young Shar-Peis. *J Vet Diagn Invest* 1995; 7: 360-3.

Miller RL, Van Lelyveld S, Warland J, Dobson JM, Foale RD. A retrospective review of treatment and response of high-risk mast cell tumours in dogs. *Vet Comp Oncol* 2014;

Misdorp W. Incomplete surgery, local immunostimulation, and recurrence of some tumour types in dogs and cats. *Vet Q* 1987; 9: 279-86.

Misdorp W. Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *Vet Q* 2004; 26: 156-69.

Mitchell L, Thamm DH, Biller BJ. Clinical and immunomodulatory effects of toceranib combined with low-dose cyclophosphamide in dogs with cancer. *J Vet Intern Med* 2012; 26: 355-62.

Miyajima N, Watanabe M, Ohashi E, Mochizuki M, Nishimura R, Ogawa H, Sugano S, Sasaki N. Relationship between retinoic acid receptor alpha gene expression and growth-inhibitory effect of all-trans retinoic acid on canine tumor cells. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 348-54.

Moore LE, Garrett LD, Debey B, Biller DS. Spinal mast cell tumor in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 2002; 38: 67-70.

Morini M, Bettini G, Preziosi R, Mandrioli L. C-kit gene product (CD117) immunoreactivity in canine and feline paraffin sections. *J Histochem Cytochem* 2004; 52: 705-8.

Mullins MN, Dernell WS, Withrow SJ, Ehrhart EJ, Thamm DH, Lana SE. Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 cases (1998-2004). *J Am Vet Med Assoc* 2006; 228: 91-5.

Murphy S, Sparkes AH, Smith KC, Blunden AS, Brearley MJ. Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumours in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection. *Vet Rec* 2004; 154: 743-6.

Murphy S, Sparkes AH, Blunden AS, Brearley MJ, Smith KC. Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *Vet Rec* 2006; 158: 287-91.

Nagamine MK, Sanches DS, Pinello KC, Torres LN, Menecier G, Latorre AO, Fukumasu H, Dagli ML. In vitro inhibitory effect of trichostatin A on canine grade 3 mast cell tumor. *Vet Res Commun* 2011; 35: 391-9.

Neyens IJ, Kirpensteijn J, Grinwis GC, Teske E. Pilot study of intraregional deionised water adjunct therapy for mast cell tumours in dogs. *Vet Rec* 2004; 154: 90-1.

Nguyen SM, Thamm DH, Vail DM, London CA. Response evaluation criteria for solid tumours in dogs (v1.0): a Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) consensus document. *Vet Comp Oncol* 2015; 13: 176-83.

Northrup NC, Roberts RE, Harrell TW, Allen KL, Howerth EW, Gieger TL. Iridium-192 interstitial brachytherapy as adjunctive treatment for canine cutaneous mast cell tumors. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 309-15.

Northrup NC, Howerth EW, Harmon BG, Brown CA, Carmicheal KP, Garcia AP, Latimer KS, Munday JS, Rakich PM, Richey LJ, Stedman NL, Gieger TL. Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *J Vet Diagn Invest* 2005; 17: 561-4.

O'Connell K, Thomson M. Evaluation of prognostic indicators in dogs with multiple, simultaneously occurring cutaneous mast cell tumours: 63 cases. *Vet Comp Oncol* 2013; 11: 51-62.

O'Keefe DA, Couto CG, Burke-Schwartz C, Jacobs RM. Systemic mastocytosis in 16 dogs. *J Vet Intern Med* 1987; 1: 75-80.

O'Keefe DA. Canine mast cell tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 1990; 20: 1105-15.

Ogura S, Abe S, Sukoh N, Kunikane H, Nakajima I, Inoue K, Kawakami Y. Correlation between nucleolar organizer regions visualized by silver staining and the growth rate in lung adenocarcinoma. *Cancer* 1992; 70: 63-8.

Ohashi E, Miyajima N, Nakagawa T, Takahashi T, Kagechika H, Mochizuki M, Nishimura R, Sasaki N. Retinoids induce growth inhibition and apoptosis in mast cell tumor cell lines. *J Vet Med Sci* 2006; 68: 797-802.

Ozaki K, Yamagami T, Nomura K, Narama I. Mast cell tumors of the



gastrointestinal tract in 39 dogs. *Vet Pathol* 2002; 39: 557-64.

Pan X, Tsimbas K, Kurzman ID, Vail DM. Safety evaluation of combination CCNU and continuous toceranib phosphate (Palladia) in tumour-bearing dogs: a phase I dose-finding study. *Vet Comp Oncol* 2016; 14: 202-9.

Patnaik AK, MacEwen EG, Black AP, Luckow S. Extracutaneous mast-cell tumor in the dog. *Vet Pathol* 1982; 19: 608-15.

Patnaik AK, Ehler WJ, MacEwen EG. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet Pathol* 1984; 21: 469-74.

Patruno R, Arpaia N, Gadaleta CD, Passantino L, Zizzo N, Misino A, Lucarelli NM, Catino A, Valerio P, Ribatti D, Ranieri G. VEGF concentration from plasma-activated platelets rich correlates with microvascular density and grading in canine mast cell tumour spontaneous model. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 555-61.

Patruno R, Marech I, Zizzo N, Ammendola M, Nardulli P, Gadaleta C, Introna M, Capriuolo G, Rubini RA, Ribatti D, Gadaleta CD, Ranieri G. c-Kit expression, angiogenesis, and grading in canine mast cell tumour: a unique model to study c-Kit driven human malignancies. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 730246.

Pelt DR, Fowler JD, Leighton FA. Multiple cutaneous mast cell tumors in a dog: a case report and brief review. *Can Vet J* 1986; 27: 259-63.

Peter B, Gleixner KV, Cerny-Reiterer S, Herrmann H, Winter V, Hadzijusufovic E, Ferenc V, Schuch K, Mirkina I, Horny HP, Pickl WF, Mullauer L, Willmann M, Valent P. Polo-like kinase-1 as a novel target in neoplastic mast cells: demonstration of growth-inhibitory effects of small interfering RNA and the Polo-like kinase-1 targeting drug BI 2536. *Haematologica* 2011; 96: 672-80.

Peters JA. Canine mastocytoma: excess risk as related to ancestry. *J Natl Cancer Inst* 1969; 42: 435-43.

Pich A, Chiusa L, Margaria E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. *Micron* 2000; 31: 133-41.

Pinello KC, Nagamine M, Silva TC, Matsuzaki P, Caetano HV, Torres LN, Fukumasu H, Avanzo JL, Matera JM, Dagli ML. In vitro chemosensitivity of canine mast cell tumors grades II and III to all-trans-retinoic acid (ATRA). *Vet Res Commun* 2009; 33: 581-8.

Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himber G, Pigeon F, Adnet JJ. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J* 1986; 18: 5-14.

Poirier VJ, Burgess KE, Adams WM, Vail DM. Toxicity, dosage, and efficacy of vinorelbine (Navelbine) in dogs with spontaneous neoplasia. *J Vet Intern Med* 2004; 18: 536-9.

Poirier VJ, Adams WM, Forrest LJ, Green EM, Dubielzig RR, Vail DM. Radiation therapy for incompletely excised grade II canine mast cell tumors. *J Am Anim Hosp Assoc* 2006; 42: 430-4.

Pratschke KM, Atherton MJ, Sillito JA, Lamm CG. Evaluation of a modified proportional margins approach for surgical resection of mast cell tumors in dogs: 40 cases (2008-2012). *J Am Vet Med Assoc* 2013; 243: 1436-41.

Preziosi R, Morini M, Sarli G. Expression of the KIT protein (CD117) in primary cutaneous mast cell tumors of the dog. *J Vet Diagn Invest* 2004a; 16: 554-61.

Preziosi R, Sarli G, Paltrinieri M. Prognostic value of intratumoral vessel density in cutaneous mast cell tumors of the dog. *J Comp Pathol* 2004b; 130: 143-51.

Preziosi R, Sarli G, Paltrinieri M. Multivariate survival analysis of histological parameters and clinical presentation in canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Res Commun* 2007; 31: 287-96.

Pryer NK, Lee LB, Zadovaskaya R, Yu X, Sukbuntherng J, Cherrington JM, London CA. Proof of target for SU11654: inhibition of KIT phosphorylation in canine mast cell tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5729-34.

Rabanal RH, Fondevila DM, Montane V, Domingo M, Ferrer L. Immunocytochemical diagnosis of skin tumours of the dog with special reference to undifferentiated types. *Res Vet Sci* 1989; 47: 129-33.

Raskin RE (2015) Skin and Subcutaneous Tissues. In: *Canine and Feline Cytology*, 3 edn. Eds Raskin RE, Meyer DJ. Elsevier, 3251 Riverport Lane St. Louis, MO 63043. 34 - 90

Rassnick KM, Moore AS, Williams LE, London CA, Kintzer PP, Engler SJ, Cotter SM. Treatment of canine mast cell tumors with CCNU (lomustine). *J Vet Intern Med* 1999; 13: 601-5.

Reguera MJ, Rabanal RM, Puigdemont A, Ferrer L. Canine mast cell tumors express stem cell factor receptor. *Am J Dermatopathol* 2000; 22: 49-54.

Reimer SB, Seguin B, DeCock HE, Walsh PJ, Kass PH. Evaluation of the effect of routine histologic processing on the size of skin samples obtained from dogs. *Am J Vet Res* 2005; 66: 500-5.

Risselada M, Mathews KG, Griffith E. Surgically planned versus histologically measured lateral tumor margins for resection of cutaneous and subcutaneous mast cell tumors in dogs: 46 cases (2010-2013). *J Am Vet Med Assoc* 2015; 247: 184-9.

Riva F, Brizzola S, Stefanello D, Crema S, Turin L. A study of mutations in the c-kit gene of 32 dogs with mastocytoma. *J Vet Diagn Invest* 2005; 17: 385-8.

Robat C, London C, Bunting L, McCartan L, Stingle N, Selting K, Kurzman I, Vail DM. Safety evaluation of combination vinblastine and toceranib phosphate (Palladia(R)) in dogs: a phase I dose-finding study. *Vet Comp Oncol* 2012; 10: 174-83.

Roberts SM, Severin GA, Lavach JD. Prevalence and treatment of palpebral neoplasms in the dog: 200 cases (1975-1983). *J Am Vet Med Assoc* 1986; 189: 1355-9.

Roels S, Tilmant K, Ducatelle R. PCNA and Ki67 proliferation markers as criteria for prediction of clinical behaviour of melanocytic tumours in cats and dogs. *J Comp Pathol* 1999; 121: 13-24.

Rogers KS. Mast cell tumors: dilemmas of diagnosis and treatment. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 87-102.

Romansik EM, Reilly CM, Kass PH, Moore PF, London CA. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol* 2007; 44: 335-41.

Sabattini S, Scarpa F, Berlato D, Bettini G. Histologic grading of canine mast cell tumor: is 2 better than 3? *Vet Pathol* 2015; 52: 70-3.

Sandusky GE, Carlton WW, Wightman KA. Diagnostic immunohistochemistry of canine round cell tumors. *Vet Pathol* 1987; 24: 495-9.

Sarli G, Preziosi R, Benazzi C, Castellani G, Marcato PS. Prognostic value of histologic stage and proliferative activity in canine malignant mammary tumors. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 25-34.

Sato AF, Solano M. Ultrasonographic findings in abdominal mast cell disease: a retrospective study of 19 patients. *Vet Radiol Ultrasound* 2004; 45: 51-7.

Scase TJ, Edwards D, Miller J, Henley W, Smith K, Blunden A, Murphy S. Canine mast cell tumors: correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 151-8.

Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311-22.

Schultheiss PC, Gardiner DW, Rao S, Olea-Popelka F, Tuohy JL. Association of histologic tumor characteristics and size of surgical margins with clinical outcome after surgical removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2011; 238: 1464-9.

Seguin B, Leibman NF, Bregazzi VS, Ogilvie GK, Powers BE, Dernell WS, Fettman MJ, Withrow SJ. Clinical outcome of dogs with grade-II mast cell tumors treated with surgery alone: 55 cases (1996-1999). *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218: 1120-3.

Seguin B, Besancon MF, McCallan JL, Dewe LL, Tenwolde MC, Wong EK, Kent MS. Recurrence rate, clinical outcome, and cellular proliferation indices as prognostic indicators after incomplete surgical excision of cutaneous grade II mast cell tumors: 28 dogs (1994-2002). *J Vet Intern Med* 2006; 20: 933-40.

Sfiligoi G, Rassnick KM, Scarlett JM, Northrup NC, Gieger TL. Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations: 124 cases (1990-2001). *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226: 1368-74.

Siefert G, Stockl T. Die Entdeckung der Mastzellen durch den Freiburger Medizinstudenten Paul Ehrlich. *Medizinhist J* 1983; 18: 227-37.

Simoes JP, Schoning P, Butine M. Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. *Vet Pathol* 1994; 31: 637-47.

Simpson AM, Ludwig LL, Newman SJ, Bergman PJ, Hottinger HA, Patnaik AK. Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast

cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224: 236-40.

Sledge DG, Webster J, Kiupel M. Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. *Vet J* 2016;

Smith J, Kiupel M, Farrelly J, Cohen R, Olmsted G, Kirpensteijn J, Brocks B, Post G. Recurrence rates and clinical outcome for dogs with grade II mast cell tumours with a low AgNOR count and Ki67 index treated with surgery alone. *Vet Comp Oncol* 2015;

Smith J, Kiupel M, Farrelly J, Cohen R, Olmsted G, Kirpensteijn J, Brocks B, Post G. Recurrence rates and clinical outcome for dogs with grade II mast cell tumours with a low AgNOR count and Ki67 index treated with surgery alone. *Vet Comp Oncol* 2017; 15: 36-45.

Smrkovski OA, Essick L, Rohrbach BW, Legendre AM. Masitinib mesylate for metastatic and non-resectable canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2015; 13: 314-21.

Spugnini EP, Vincenzi B, Baldi F, Citro G, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy for the treatment of incompletely resected canine mast cell tumors. *Anticancer Res* 2006; 26: 4585-9.

Spugnini EP, Vincenzi B, Citro G, Dotsinsky I, Mudrov T, Baldi A. Evaluation of Cisplatin as an electrochemotherapy agent for the treatment of incompletely excised mast cell tumors in dogs. *J Vet Intern Med* 2011; 25: 407-11.

Stanclift RM, Gilson SD. Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 53-62.

Stefanello D, Valenti P, Faverzani S, Bronzo V, Fiorbianco V, Pinto da Cunha N, Romussi S, Cantatore M, Caniatti M. Ultrasound-guided cytology of spleen and liver: a prognostic tool in canine cutaneous mast cell tumor. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 1051-7.

Stefanello D, Buracco P, Sabattini S, Finotello R, Giudice C, Grieco V, Iussich S, Tursi M, Scase T, Di Palma S, Bettini G, Ferrari R, Martano M, Gattino F, Marrington M, Mazzola M, Elisabetta Vasconi M, Annoni M, Marconato L.

Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009-2014). *J Am Vet Med Assoc* 2015; 246: 765-9.

Steffey M, Rassnick KM, Porter B, Njaa BL. Ureteral mast cell tumor in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 82-5.

Stockham SL, Basel DL, Schmidt DA. Mastocytemia in dogs with acute inflammatory diseases. *Vet Clin Pathol* 1986; 15: 16-21.

Strefezzi Rde F, Xavier JG, Kleeb SR, Catao-Dias JL. Nuclear morphometry in cytopathology: a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumors. *J Vet Diagn Invest* 2009; 21: 821-5.

Strefezzi RDF, Xavier J, Catao-Dias J. Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology Online* 2003; 40: 268-75.

Takahashi T, Kadosawa T, Nagase M, Mochizuki M, Matsunaga S, Nishimura R, Sasaki N. Inhibitory effects of glucocorticoids on proliferation of canine mast cell tumor. *J Vet Med Sci* 1997; 59: 995-1001.

Takahashi T, Kadosawa T, Nagase M, Matsunaga S, Mochizuki M, Nishimura R, Sasaki N. Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982-1997). *J Am Vet Med Assoc* 2000; 216: 222-6.

Takeuchi Y, Fujino Y, Watanabe M, Takahashi M, Nakagawa T, Takeuchi A, Bonkobara M, Kobayashi T, Ohno K, Uchida K, Asano K, Nishimura R, Nakayama H, Sugano S, Ohashi Y, Tsujimoto H. Validation of the prognostic value of histopathological grading or c-kit mutation in canine cutaneous mast cell tumours: a retrospective cohort study. *Vet J* 2013; 196: 492-8.

Tanabe S, Yamaguchi M, Iijima M, Nakajima S, Sakata I, Miyaki S, Takemura T, Furuoka H, Kobayashi Y, Matsui T, Uzuka Y, Sarashina T. Fluorescence detection of a new photosensitizer, PAD-S31, in tumour tissues and its use as a photodynamic treatment for skin tumours in dogs and a cat: a preliminary report. *Vet J* 2004; 167: 286-93.

Taylor F, Gear R, Hoather T, Dobson J. Chlorambucil and prednisolone chemotherapy for dogs with inoperable mast cell tumours: 21 cases. *J Small Anim Pract* 2009; 50: 284-9.

Thamm D, Webster J (2015) Prognostic and Predictive Significance of KIT Protein Expression and c-kit Gene Mutation. Ed Subgroup VO-PWGMCT. Vetcancersociety, P.O. Box 30855 Columbia, MO 65205. 1 - 18

Thamm DH, Mauldin EA, Vail DM. Prednisone and vinblastine chemotherapy for canine mast cell tumor-41 cases (1992-1997). J Vet Intern Med 1999; 13: 491-7.

Thamm DH, Turek MM, Vail DM. Outcome and prognostic factors following adjuvant prednisone/vinblastine chemotherapy for high-risk canine mast cell tumour: 61 cases. J Vet Med Sci 2006; 68: 581-7.

Thompson JJ, Pearl DL, Yager JA, Best SJ, Coomber BL, Foster RA. Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. Vet Pathol 2011; 48: 156-68.

Thrall DE, Dewhirst MW. Use of radiation and/or hyperthermia for treatment of mast cell tumors and lymphosarcoma in dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1985; 15: 835-43.

Tollett MA, Duda L, Brown DC, Krick EL. Palliative radiation therapy for solid tumors in dogs: 103 cases (2007-2011). J Am Vet Med Assoc 2016; 248: 72-82.

Trere D, Gramantieri L, Siringo S, Melchiorri C, Barbara L, Bolondi L, Derenzini M. In hepatocellular carcinoma AgNOR protein expression correlates with tumour mass doubling time. J Hepatol 1996; 24: 60-5.

Turrel JM, Kitchell BE, Miller LM, Theon A. Prognostic factors for radiation treatment of mast cell tumor in 85 dogs. J Am Vet Med Assoc 1988; 193: 936-40.

van Lelyveld S, Warland J, Miller R, Maw H, Foale R, Goodfellow M, Dobson J. Comparison between Ki-67 index and mitotic index for predicting outcome in canine mast cell tumours. J Small Anim Pract 2015; 56: 312-9.

Vascellari M, Giantin M, Capello K, Carminato A, Morello EM, Vercelli A, Granato A, Buracco P, Dacasto M, Mutinelli F. Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in canine cutaneous mast cell tumors: association with grading and prognosis. Vet Pathol 2013; 50: 110-21.

VCOG. Veterinary cooperative oncology group - common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.1. Vet Comp Oncol 2016; 14: 417 - 46.

Villamil JA, Henry CJ, Bryan JN, Ellersieck M, Schultz L, Tyler JW, Hahn AW. Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. *J Am Vet Med Assoc* 2011; 239: 960-5.

Warland J, Dobson J. Breed predispositions in canine mast cell tumour: a single centre experience in the United Kingdom. *Vet J* 2013; 197: 496-8.

Webster JD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Kaneene JB, Miller R, Resau JH, Kiupel M. The role of c-KIT in tumorigenesis: evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. *Neoplasia* 2006; 8: 104-11.

Webster JD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Miller RA, Kaneene JB, Kiupel M. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Vet Pathol* 2007; 44: 298-308.

Webster JD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Thamm DH, Hamilton E, Kiupel M. Evaluation of prognostic markers for canine mast cell tumors treated with vinblastine and prednisone. *BMC Vet Res* 2008; 4: 32.

Weishaar KM, Thamm DH, Worley DR, Kamstock DA. Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. *J Comp Pathol* 2014; 151: 329-38.

Weisse C, Shofer FS, Sorenmo K. Recurrence rates and sites for grade II canine cutaneous mast cell tumors following complete surgical excision. *J Am Anim Hosp Assoc* 2002; 38: 71-3.

Welle MM, Bley CR, Howard J, Rufenacht S. Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Vet Dermatol* 2008; 19: 321-39.

White CR, Hohenhaus AE, Kelsey J, Procter-Gray E. Cutaneous MCTs: associations with spay/neuter status, breed, body size, and phylogenetic cluster. *J Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47: 210-6.

Worley DR. Incorporation of sentinel lymph node mapping in dogs with mast cell tumours: 20 consecutive procedures. *Vet Comp Oncol* 2014; 12: 215-26.

Wouda RM, Miller ME, Chon E, Stein TJ. Clinical effects of vinorelbine



administration in the management of various malignant tumor types in dogs: 58 cases (1997-2012). *J Am Vet Med Assoc* 2015; 246: 1230-7.

Yamada O, Kobayashi M, Sugisaki O, Ishii N, Ito K, Kuroki S, Sasaki Y, Isotani M, Ono K, Washizu T, Bonkobara M. Imatinib elicited a favorable response in a dog with a mast cell tumor carrying a c-kit c.1523A>T mutation via suppression of constitutive KIT activation. *Vet Immunol Immunopathol* 2011; 142: 101-6.

Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull TJ, Chen E, Schlessinger J, Francke U, Ullrich A. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *Embo j* 1987; 6: 3341-51.

Zemke D, Yamini B, Yuzbasiyan-Gurkan V. Mutations in the juxtamembrane domain of c-KIT are associated with higher grade mast cell tumors in dogs. *Vet Pathol* 2002; 39: 529-35.

## IX. ANHANG

### Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der WHO .....	10
Tabelle 2: Tumorgrad nach Bostock.....	11
Tabelle 3: Tumorgrad nach Patnaik .....	11
Tabelle 4: Referenzwerte der Blutergebnisse .....	51
Tabelle 5: RTH-Protokolle für MCT an der MTK.....	53
Tabelle 6: Geschlechtsverteilung .....	57
Tabelle 7: Verteilung Hunderassen mit MCT an der MTK zwischen 2006-2015 .....	58
Tabelle 8: Lokalisation der MCT .....	59
Tabelle 9: Juckreiz und Entzündung als paraneoplastisches Syndrom.....	59
Tabelle 10: Erbrechen als paraneoplastisches Syndrom .....	60
Tabelle 11: Verteilung Tumorgrad nach Patnaik.....	60
Tabelle 12: Verteilung Tumorgrad nach Kiupel.....	61
Tabelle 13: Tumorgrad nach Patnaik mit Rezidiv im Studienzeitraum .....	61
Tabelle 14: Tumorgrad nach Kiupel mit Rezidiv im Studienzeitraum .....	61
Tabelle 15: Vergrößerung des regionären Lymphknotens.....	62
Tabelle 16: Tumorform und Metastasen .....	63
Tabelle 17: Ergebnisse für WBC .....	63
Tabelle 18: Ergebnisse für neutrophile Granulozyten .....	64
Tabelle 19: Ergebnisse für Thrombozyten .....	64
Tabelle 20: Ergebnisse für eosinophile Granulozyten.....	64
Tabelle 21: Anämiegrad nach VCOG-Kriterien .....	65
Tabelle 22: Ergebnisse für Harnstoff nach VCOG-Kriterien.....	65
Tabelle 23: Ergebnisse für Creatinin nach VCOG-Kriterien .....	66
Tabelle 24: AP-Aktivität nach VCOG-Kriterien .....	66
Tabelle 25: ALT-Aktivität nach VCOG-Kriterien.....	67
Tabelle 26: mitotischer Index und MST .....	67
Tabelle 27: Mitotischer Index und DFI .....	67
Tabelle 28: Veränderung von c-KIT und MST .....	68
Tabelle 29: Veränderung von c-KIT und DFI.....	68
Tabelle 30: Ki-67 und MST .....	68
Tabelle 31: Beurteilung der OP-Ränder .....	69
Tabelle 32: Anzahl Therapieprotokolle .....	70
Tabelle 33: Übersicht RTH-Protokolle.....	71
Tabelle 34: Nebenwirkungen der Chemotherapie.....	71
Tabelle 35: Konzentration neutrophiler Granulozyten unter Chemotherapie .....	72

Tabelle 36: VCOG Einteilung für Durchfall als Nebenwirkung der Chemotherapie .....	72
Tabelle 37: VCOG Einteilung für Erbrechen als Nebenwirkung der Chemotherapie .....	73
Tabelle 38: Nebenwirkungen der Strahlentherapie .....	74
Tabelle 39: Ansprechen auf die Behandlung (Response) .....	75
Tabelle 40: Outcome der Behandlung .....	75
Tabelle 41: Todesursache der Patienten .....	76
Tabelle 42: Todesursache und Tumorgrad nach Patnaik .....	76
Tabelle 43: Todesursache und Tumorgrad nach Kiupel .....	77
Tabelle 44: Todesursache und WHO-Stadium .....	78
Tabelle 45: Todesursache und MST .....	78
Tabelle 46: MST und mitotischer Index .....	81
Tabelle 47: MST und Ki67 .....	81
Tabelle 48: MST und c-KIT .....	81
Tabelle 49: MST und Behandlungsgruppen .....	82
Tabelle 50: MST und Ansprechen auf 1. Chemotherapie .....	82
Tabelle 51: DFI und Behandlungsgruppen .....	83
Tabelle 52: DFI und Tumorgrad nach Patnaik .....	84
Tabelle 53: DFI und Tumorgrad nach Kiupel .....	84
Tabelle 54: DFI und WHO-Stadium .....	84
Tabelle 55: DFI und Tumorform .....	84
Tabelle 56: DFI und Behandlungsgruppen .....	85
Tabelle 57: Jahresgrenze und Todesursache .....	86
Tabelle 58: Jahresgrenze und MST .....	86
Tabelle 59: Jahresgrenze und Tumorgröße .....	86
Tabelle 60: Jahresgrenze und Vergrößerung des regionären Lymphknotens .....	87
Tabelle 61: Jahresgrenze und Juckreiz/Entzündung .....	87

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Todesursache und Tumorgrad nach Patnaik .....	77
Abbildung 2: Kaplan-Meier-Kurve Tumorgrad nach Patnaik .....	79
Abbildung 3: Kaplan-Meier-Kurve Tumorgrad nach Kiupel .....	79
Abbildung 4: Kaplan-Meier-Kurve Einteilung der WHO .....	80
Abbildung 5: MST und Behandlungsgruppen .....	80
Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurve Anzahl der Chemotherapieprotokolle .....	83

## **X. DANKSAGUNG**

Mein ganz besonderer Dank gebührt allen voran meinem Doktorvater und Betreuer, Prof. Dr. Johannes Hirschberger, der mir dieses Dissertationsthema anvertraut hat und mir jederzeit mit seiner freundlichen und herzlichen Art zur Seite stand.

Ganz besonders möchte ich mich in diesem Rahmen auch bei Dr. Karin Weber für die schnelle und unproblematische Unterstützung bei der Datensammlung mit Vetera® bedanken. Weiter möchte ich mich bei Dr. Sven Reese für die Hilfe und Beratung bei der statistischen Auswertung der gesammelten Daten mit SPSS® bedanken.

Nicht zuletzt müssen hier auch alle meine Kollegen aus der Onkologie erwähnt werden, insbesondere Dr. Katja Zimmermann und Dr. Franziska Hergt, die immer ein offenes Ohr für mich hatten und mir mit ihren wertvollen Ideen und Tipps den Einstieg in dieses Thema erleichtert haben.

Abschließend möchte ich meinen lieben Eltern danken, die mich jederzeit unterstützt haben.

Tanja – Danke, dass Du immer für mich da bist!